

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

**(Skripsi)**

**Oleh**

**TYA GITA PUTRI UTAMI**



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

## ABSTRACT

### ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ALKALOID COMPOUNDS METHANOL EXTRACT *SPONGE Clathria* sp.

By

TYA GITA PUTRI UTAMI

The study of the isolation and characterization of alkaloid compounds from methanol extract *sponge Clathria* sp. has been carried out. Sample *Clathria* sp. was collected from Kepulauan Seribu by scuba diving. The isolation was done which several steps of chromatography. Analysis structure of the compound was determined by infrared (IR) and mass spectroscopy (MS) methods. The result of isolation was obtained compound 04GP2S3K4 as much as  $\pm 30$  mg (0,002%). The TLC test using silica plate eluted with 100% IPA and visualizing with Dragendorff reagent showed a single orange stain at Rf 0.6. Interpretation of IR spectra showed typical alkaloid compound in the presence of secondary amine (–N–H) group at  $3376\text{ cm}^{-1}$  and tertiary amine bond (C=N) at  $1640\text{ cm}^{-1}$ , the presence of =C–H conjugated at  $3138\text{ cm}^{-1}$  and the C=C alkenes at  $1401\text{ cm}^{-1}$ . Interpretation of the mass spectrum 04GP2S3K4 indicated the molecular formula  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{N}_2$  with m/z 366. Further analysis the data of fragmentation mass spectroscopic, the 04GP2S3K4 compound is suspected as an analog of Mirabilin skeleton.

**Key words:** Mirabilin, *Clathria* sp., isolation, *sponge*, alkaloids.

## ABSTRAK

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

Oleh

**TYA GITA PUTRI UTAMI**

Telah dilakukan kajian isolasi dan karakterisasi senyawa alkaloid dari ekstrak metanol *sponge Clathria* sp. Sampel *Clathria* sp. diambil dari Kepulauan Seribu dengan cara *scuba diving*. Isolasi dilakukan dengan beberapa tahap kromatografi. Analisis struktur senyawa ditentukan dengan metode *infrared* (IR) dan spektroskopi massa (MS). Hasil isolasi diperoleh senyawa 04GP2S3K4 sebanyak  $\pm 30$  mg (0,002%). Uji KLT menggunakan plat silika yang dielusi dengan IPA 100% dan divisualisasi menggunakan pereaksi Dragendorff terlihat adanya noda *orange* tunggal pada Rf 0,6. Interpretasi spektrum IR menunjukkan khas senyawa alkaloid, terlihat adanya gugus amina sekunder ( $-N-H$ ) pada  $3376\text{ cm}^{-1}$  dan adanya ikatan amina tersier ( $C=N$ ) pada pita serapan  $1640\text{ cm}^{-1}$ , adanya gugus  $=C-H$  terkonjugasi pada  $3138\text{ cm}^{-1}$  dan ikatan  $C=C$  alkena pada  $1401\text{ cm}^{-1}$ . Interpretasi spektrum massa senyawa 04GP2S3K4, diusulkan formula molekul  $C_{25}H_{38}N_2$  dengan  $m/z$  366. Analisis lebih lanjut dari data fragmentasi spektroskopi massa, senyawa 04GP2S3K4 sebagai kerangka mirip Mirabilin.

**Kata Kunci:** Mirabilin, *Clathria* sp., isolasi, *sponge*, alkaloid.

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

**Oleh**

**TYA GITA PUTRI UTAMI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

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

Nama Mahasiswa : **Tya Gita Putri Utami**

No. Pokok Mahasiswa : 1347011006

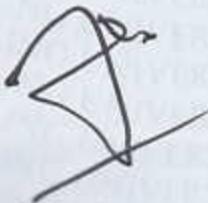
Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

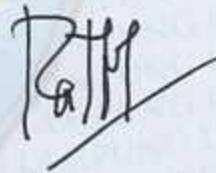


**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**



**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**

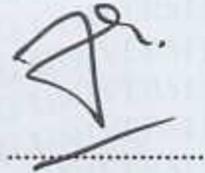


**Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP 19740705 200003 1 001

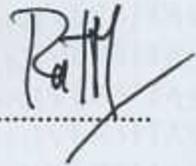
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

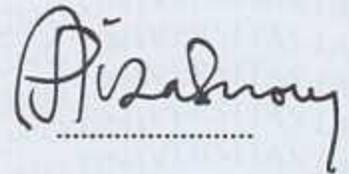
Ketua : **Andi Setiawan, Ph.D.**



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

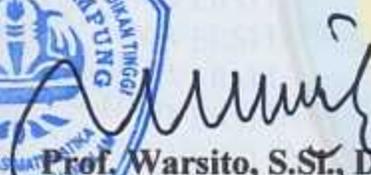


Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**



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



Penulis bernama lengkap Tya Gita Putri Utami, lahir di Bengkulu pada tanggal 3 Oktober 1994, merupakan anak pertama dari pasangan suami istri Bapak Ahmad Raji Muda dan Ibu Maysaroh.

Penulis telah menyelesaikan pendidikan mulai dari TK di Dharma Wanita Bengkulu pada tahun 2001, Sekolah Dasar di SD Negeri 7 Podorejo Pringsewu pada tahun 2007, SMP Negeri 1 Pringsewu lulus pada tahun 2010. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas pada tahun 2010 di SMA Negeri 1 Pringsewu, lulus pada tahun 2013. Mulai tahun 2013 hingga penulisan skripsi ini, penulis melanjutkan pendidikan di Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung.

Selain menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) sebagai Kader Muda Himaki tahun 2013-2014, anggota Biro Usaha Mandiri pada tahun (2014-2015 dan 2015-2016). Selama menjadi mahasiswa, pada tahun 2016 penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Kimia Dasar untuk mahasiswa Teknik Pertanian (Fakultas Pertanian) dan asisten praktikum Kimia Organik untuk mahasiswa Biologi kelas A angkatan 2015 (FMIPA). Pada tahun 2017 menjadi asisten praktikum Kimia Organik untuk mahasiswa Kimia angkatan 2016 (FMIPA), Universitas Lampung.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Dengan rasa syukur pada Allah SWT., Kupersembahkan karya sederhanaku ini teruntuk:*

*Orang tuaku,  
Bapak Ahmad Raji Muda dan Ibu Maysaroh yang telah memberikan cinta kasih, semangat, pengorbanan, dukungan, dan doa untukku.*

*Adikku Onti Sinditiya*

*Bapak Andi Setiawan, Ph.D. selaku pembimbing yang telah sabar dan tiada lelah membimbing*

*Orang terkasih, Sahabat, Kerabat, dan Teman.*

*Almamater Tercinta*

*Universitas Lampung*

## MOTTO

*Ridho Allah berada pada ridho kedua orang tuanya  
dan murka Allah (akibat) murka kedua orang  
tuanya.*

**(HR. At-Tarmizi)**

*“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)**

*“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia  
amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu  
mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi  
kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu  
tidak mengetahui”.*

**(QS. Al-Baqarah: 216)**

## SANWACANA

*Alhamdulillahirrobbil'alamiin.* Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat, karunia, dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol *Sponge Clathria sp.*”**. *Sholawat* serta salam kepada Nabi Muhammad SAW, beserta para keluarga, sahabat, dan seluruh umatnya yang selalu taat mengamalkan ajaran dan sunnah-Nya. Teriring doa yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua dan adik yang selalu memberi cinta kasih, motivasi, pengorbanan, dukungan, dan doa untuk penulis.
2. Bapak Andi Setiawan, Ph.D. selaku pembimbing pertama penelitian, atas segala bimbingan, motivasi, bantuan, nasihat, dan saran hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna J., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing, membantu, memberikan nasihat, dan saran hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku pembahas, atas segala saran dan kritik yang sangat membangun dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. dan Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan, bantuan, dan nasihat yang bermanfaat.

6. Bapak dan Ibu staff Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung atas izinnya untuk menyelesaikan penelitian.
7. Bapak Dr. Eng Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung.
8. Bapak Ibu dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu dan bimbingan yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan.
9. Bapak Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
10. Bapak Wawan, Ibu Dian, Mbak Yunia (almh), Mbak Lina, Kak Miftah, Kak Wagiran, Kak Purna yang selalu membantu, menasehati, dan memberikan motivasi kepada penulis.
11. *Partner* penelitian penulis; Faradilla Dwi Friskancelli, Sri Utami, Dewi Citra Ariani, Riska Martina, M. Sanubara Priamorta, Kak Arik Irawan yang selalu membantu, menasehati, dan memberikan motivasi.
12. Rekan-rekan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi; Mbak Febita, Kak Ari Susanto, Fitri Oktavianica, Fendi, Rahmah, Rosi, Jepi, Jatmiko atas semangat dan bantuan yang diberikan.
13. Keluarga kimia 2013 yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kebersamaan dan keceriaan dalam melalui hari demi hari di kehidupan kampus.
14. Nita Yuliyani, Yudha Ari Satria, Dona Mailani P., yang selalu setia, terima kasih atas segala do'a, dukungan, motivasi, saran, kritik, nasihat, dan bantuannya dengan penuh kesabaran hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

15. Sahabat-sahabat Kimia LULUS Celli, Auls, Dian, Siti, Ambal (Ismi), Megafhit, Ana, Tono yang selalu memberikan motivasi kepada penulis.
16. Teman-teman KKN Desa Joharan, Putra Rumbia (Nurul, Kak Fakhri, Icai, Bejo, Fitri, dan Agung) atas kebersamaan dan semangatnya.
17. Himaki FMIPA Unila yang telah memberikan pengalaman yang luar biasa kepada penulis.
18. Seluruh keluarga besar Jurusan kimia FMIPA angkatan 2009-2015.
19. Semua Pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.
20. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Atas segala kebaikan yang telah diberikan, semoga Allah SWT. membalas dengan pahala yang berlipat ganda. *Aamiin*. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan, namun penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi rekan-rekan khususnya mahasiswa kimia dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung,      Juni 2018  
Penulis

**Tya Gita Putri Utami**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
C. Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
A. <i>Sponge</i> .....	4
B. Klasifikasi <i>Sponge</i> .....	5
C. <i>Clathria</i> sp. ....	6
D. Senyawa Metabolit Sekunder pada <i>Sponge</i> .....	7
Alkaloid.....	8
a. Alkaloid Pirolidin .....	8
b. Alkaloid Pirimidin.....	9
E. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder .....	10
1. Ekstraksi .....	10
a. Maserasi.....	12
b. Partisi (Ekstraksi Cair-Cair) .....	13
2. Kromatografi .....	13
a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	14
b. <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i> (MPLC) .....	17
c. Kromatografi Kolom (KK).....	18
F. Spektroskopi .....	19
a. <i>Mass Spectroscopy</i> (MS).....	19
b. <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR).....	21
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	23
A. Waktu dan Tempat .....	23
B. Alat dan Bahan.....	23
C. Prosedur Penelitian .....	24
1. Biomaterial .....	24
2. Ekstraksi .....	24
3. Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) .....	25

4. Uji Pendahuluan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	25
5. <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i> (MPLC).....	26
6. Fraksinasi menggunakan Kromatografi Kolom (KK).....	26
7. Karakterisasi Senyawa Alkaloid .....	27
a. Karakterisasi Senyawa dengan Spektrofotometer IR.....	27
b. Karakterisasi Senyawa dengan Spektrofotometer MS .....	27
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
A. Ekstraksi sampel <i>sponge</i> .....	28
B. Partisi Ekstrak <i>Sponge</i> 04G .....	31
C. Fraksinasi menggunakan MPLC.....	32
D. Kromatografi Kolom (KK) .....	35
E. Karakterisasi <i>Mass Spectroscopy</i> (MS) .....	37
F. Karakterisasi Spektroskopi <i>Infra Red</i> (IR) .....	39
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>41</b>
A. Kesimpulan .....	41
B. Saran .....	41

## DAFTAR PUSTAKA

## LAMPIRAN

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Clathria reinwardtii</i> .....	7
2. Struktur Prolidin .....	8
3. Senyawa alkaloid dari <i>sponge Clathria calla</i> .....	9
4. Struktur Pirimidin .....	9
5. Senyawa alkaloid dari <i>sponge Clathria sp.</i> .....	10
6. Skema kromatografi preparatif .....	17
7. Data spektrum LC-MS hasil analisis dari <i>sponge Stylissa carteri</i> .....	21
8. Uji pendahuluan KLT 5 jenis <i>sponge</i> .....	28
9. Uji KLT 01G dan 04G .....	29
10. Sampel <i>sponge</i> 04G .....	30
11. Maserasi <i>sponge</i> 04G menggunakan pelarut MeOH .....	30
12. Partisi <i>sponge</i> 04G .....	31
13. Hasil identifikasi KLT fraksi 04GP1 dan 04GP2 .....	32
14. Hasil identifikasi fraksi 04GP2 .....	33
15. Kromatogram MPLC hasil pemisahan 04GP2 .....	34
16. Identifikasi KLT fraksi hasil MPLC .....	34
17. Kromatografi kolom.....	35
18. Identifikasi hasil KK fraksi 04GP2S3.....	36

19. Hasil identifikasi fraksi 04GP2S3K4.....	36
20. Spektrum MS senyawa 04GP2S3K4 .....	37
21. Fragmen yang mungkin dari senyawa 04GP2S3K4 .....	38
22. Struktur yang mungkin untuk senyawa 04GP2S3K4 .....	39
23. Spektrum IR senyawa 04GP2S3K4 .....	40

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Biota laut dikenal sebagai sumber penghasil senyawa metabolit sekunder yang sangat kaya. Salah satu biota laut yang berpotensi untuk dimanfaatkan yaitu *sponge*. Produksi metabolit sekunder dari *sponge* terjadi akibat interaksi dengan lingkungan biotik, abiotik, dan sebagai senjata kimia terhadap predator. Salah satu pemicu produksi senyawa adalah adanya kompetisi dengan koral (terumbu karang) dan untuk mencegah infeksi bakteri patogen (Herbert, 1995). Review Blunt *et al.* (2016) memberikan informasi bahwa 283 dari 456 senyawa baru biota laut pada tahun 2014 dilaporkan bersumber dari *sponge*. *Sponge* memiliki tiga kelas yaitu *Calcarea*, *Demospongia*, dan *Hexactinellida*.

*Demospongia* merupakan jenis *sponge* yang memiliki keanekaragaman tinggi dan relatif banyak mendapatkan perhatian dari beberapa peneliti. Review Kumar and Pal (2016) memberi informasi bahwa *Demospongia* sebagai kelas *sponge* terbesar penghasil senyawa metabolit sekunder. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang banyak diperoleh dari *sponge* yaitu golongan alkaloid. Berdasarkan review Putra and Jaswir (2014), memberikan informasi bahwa *sponge* merupakan sumber senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid dengan banyak keanekaragaman yang memiliki aktivitas biologis berbeda-beda.

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogennya merupakan bagian dari cincin heterosiklik.

Senyawa alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen. He *et al.* (2014) telah mengisolasi Hainanerektamina A-C dari *sponge Hyrtios erecta*. Yu *et al.* (2014) berhasil mengisolasi turunan Aaptamin dari *sponge Aaptos aaptos* yang memiliki aktivitas sebagai antifungi dan anti-HIV-1. Arai *et al.* (2016) berhasil mengisolasi N-Metilnipatin A dari *sponge Xestospongia* sp. Kotoku *et al.* (2017) mengisolasi senyawa Biakamida A-D dari *sponge Petrosaspongia* sp. sebagai penghambat pertumbuhan sel tumor. Namun, informasi mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *sponge Clathria* sp. masih sangat terbatas.

*Clathria* sp. adalah salah satu jenis *sponge* kelas Demospongia. Senyawa alkaloid yang telah diperoleh dari *sponge Clathria* sp. masih sedikit. Laville *et al.* (2009) mengisolasi senyawa alkaloid dari *sponge Clathria calla* yang diuji aktivitasnya terhadap sel kanker. Senyawa alkaloid dengan nama Mirabilin H-J diisolasi dari *sponge Clathria* sp. berasal dari Australia Selatan (Naggar *et al.*, 2010).

Ravichandran *et al.* (2011) mengisolasi senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Melawaty and Pasau (2015) telah meneliti *sponge Clathria reinwardtii* mengandung senyawa  $\alpha$ -limonen, namun belum diperoleh struktur tersebut dan tidak dilakukan uji aktivitasnya.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang berpotensi untuk dimanfaatkan, dimana ada lebih dari 1.500 jenis telah teridentifikasi (Harsono, 2001).

Banyaknya jenis *sponge* mencerminkan ada banyak keanekaragaman struktur

metabolit sekunder. Keragaman metabolit sekunder dari *sponge* secara kimia memiliki keunikan dan menarik untuk dilakukan kajian. Berdasarkan uraian di atas, dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi dan karakterisasi untuk memperoleh senyawa alkaloid dari *sponge Clathria* sp. yang diambil dari Kepulauan Seribu pada Bulan September 2016.

## **B. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu :

1. Mengisolasi senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid dari ekstrak metanol *sponge Clathria* sp. dari Kepulauan Seribu.
2. Karakterisasi senyawa alkaloid yang telah diisolasi dari ekstrak metanol *sponge* dengan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Mass Spectroscopy* (MS).

## **C. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini adalah memberikan informasi baru mengenai senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid dari *sponge Clathria* sp.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Sponge*

*Sponge* merupakan hewan multiseluler sederhana yang termasuk dalam filum porifera. Porifera berasal dari bahasa Latin yaitu *porus* yang berarti pori dan *fer* yang berarti membawa. Dalam mendapatkan makanan, *sponge* aktif menghisap air melalui pori-pori (*porocyte*) yang letaknya menyebar di seluruh permukaan *sponge*. Selanjutnya air akan masuk ke bagian rongga tengah (atrium) yang kemudian akan dikeluarkan melalui *osculum*. Pola makanan *sponge* yang khas yaitu *filter feeder* (menghisap dan menyaring) dapat memanfaatkan jasad renik disekitarnya sebagai sumber nutrisi diantaranya bakteri, kapang, dan zooxanthela yang hidup pada perairan tersebut (Cetovic dan Lada, 2003).

*Sponge* merupakan sumber penghasil senyawa metabolit sekunder, seperti senyawa terpenoid, poliketida, dan alkaloid. Produksi metabolit sekunder dari *sponge* terjadi akibat interaksi dengan lingkungan biotik, abiotik, dan sebagai senjata kimia terhadap predator. Salah satu pemicu produksi senyawa terpenoid, poliketida, dan alkaloid oleh *sponge* adalah adanya kompetisi dengan koral (terumbu karang) dan untuk mencegah infeksi bakteri patogen (Herbert, 1995).

## B. Klasifikasi *Sponge*

Secara umum filum porifera (*sponge*) terdiri dari tiga kelas yaitu *Calcarea*, *Demospongia*, dan *Hexactinellida*. *Calcarea* (dalam bahasa Latin, *calcare* = kapur) atau *Calcispongiae* (dalam bahasa Latin, *calci* = kapur, *spongia* = *sponge*). Tubuhnya kebanyakan berwarna pucat dengan bentuk seperti vas bunga, dompet, kendi, atau silinder. *Sponge* kelas ini memiliki struktur sederhana dibandingkan dengan kelas lainnya dan tinggi tubuh kurang dari 10 cm. Spikula yang dimiliki terdiri dari kalsium karbonat. *Calcarea* hidup di laut dangkal seperti *Sycon*, *Clathrina*, dan *Leucettusa lancifer*.

*Hexactinellida* (dalam bahasa Yunani, *hexa* = enam) atau *Hyalospongiae* (dalam bahasa Yunani, *hyalo* = kaca/transparan, *spongia* = *sponge*) disebut juga *sponge* gelas. *Hexactinellida* memiliki spikula yang tersusun dari silika. Ujung spikula berjumlah enam seperti bintang. Secara morfologi bentuknya radial simetris, biasanya silinder, tetapi ada juga yang berbentuk cangkir, guci, atau bercabang. Contoh *Hexactinellida* yaitu *Euplectella*.

*Demospongia* (dalam bahasa Yunani, *demo* = tebal, *spongia* = *sponge*). Tubuh *Demospongia* bertulang lunak karena tidak memiliki rangka, jika ada yang memiliki rangka terdiri atas serabut spongin dengan spikula dari silikat atau spongia. *Sponge* ini berwarna cerah seperti kuning terang, *orange*, merah, ungu, atau hijau karena mengandung pigmen yang terdapat pada amoebosit, fungsi warna diduga untuk melindungi tubuhnya dari sinar matahari. *Demospongia* merupakan kelas terbesar yang tersebar luas di alam. Contohnya *Callyspongia*

sp., *Cilonia* sp., *Phyllospongia* sp., *Clathria* sp., *Xestospongia* sp. Demospongia merupakan jenis *sponge* yang memiliki keanekaragaman tinggi dan relatif banyak mendapatkan perhatian dari beberapa peneliti.

Kajian senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid telah banyak ditemukan dari *sponge* kelas Demospongia (Review Kumar and Pal, 2016). He *et al.* (2014) mengisolasi Hainanerektamina A-C dari *sponge Hyrtios erecta*. Yu *et al.* (2014) berhasil mengisolasi senyawa turunan Aaptamin dari *sponge Aaptos aaptos* yang memiliki aktivitas sebagai antifungi dan anti-HIV-1. Arai *et al.* (2016) berhasil mengisolasi N-Metilnipatin A dari *sponge Xestospongia* sp. Kotoku *et al.* (2017) mengisolasi Biakamida A-D dari *sponge Petrosaspongia* sp. sebagai penghambat pertumbuhan sel tumor. Kajian tentang *Clathria* sp. informasi yang ada masih sedikit. Melawaty and Pasau (2015) telah meneliti *sponge Clathria reinwardtii* mengandung senyawa  $\alpha$ -limonen, namun belum diperoleh struktur tersebut.

### **C. *Clathria* sp.**

*Clathria* sp. adalah salah satu jenis *sponge* kelas Demospongia berwarna merah atau *orange* bercabang seperti jari, setiap jari memiliki diameter sekitar 6 mm. Tubuhnya memiliki lubang besar yang disebut oskulum yang berfungsi sebagai keluarnya air dan ekskresi. Memiliki lubang kecil yang disebut ostium untuk masuknya air yang tersebar di sepanjang tubuhnya.

Salah satu klasifikasi *Clathria* sp. yaitu :

Kingdom : Animalia  
Filum : Porifera  
Kelas : Demospongia  
Family : Microcionidae  
Genus : *Clathria*  
Species : *Clathria reinwardtii*



**Gambar 1.** *Clathria reinwardtii* (Melawaty and Pasau, 2015)

#### **D. Senyawa Metabolit Sekunder pada *Sponge***

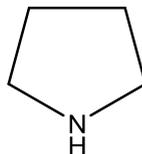
*Sponge* merupakan sumber penghasil senyawa metabolit sekunder. Senyawa ini pada suatu organisme pada umumnya berfungsi untuk bertahan dari predator, kompetitor, dan untuk mendukung proses reproduksi. Tanpa senyawa ini organisme akan menderita kerusakan atau menurunnya kemampuan bertahan hidup. Beberapa *sponge* telah terbukti mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat dalam pengembangan antibiotik, antikanker, antivirus, antioksidan, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder dari *sponge* yang telah banyak diisolasi yaitu alkaloid.

## Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogennya merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Senyawa alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen. Hasil *review* Putra *and* Jaswir (2014) menunjukkan bahwa banyak keanekaragaman senyawa alkaloid yang berhasil diisolasi dari *sponge*. Beberapa senyawa alkaloid telah diisolasi dari *sponge Clathria* sp.

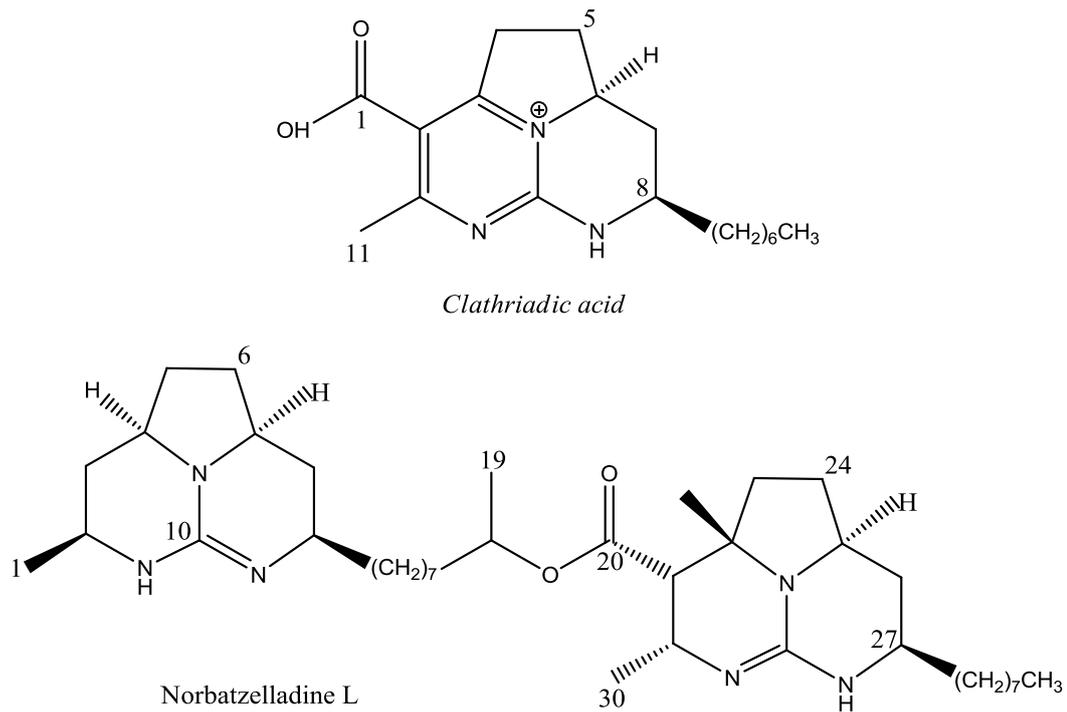
### a. Alkaloid Pirolidin

Pirolidin merupakan senyawa organik dengan rumus kimia  $C_4H_9N$ . Senyawa ini termasuk senyawa amina siklik, memiliki lima anggota cincin yang terdiri dari empat atom karbon dan satu atom nitrogen.



**Gambar 2.** Struktur Pirolidin

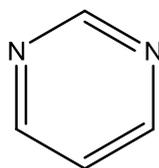
Kelompok alkaloid pirolidin berhasil diisolasi dari *sponge Clathria* sp. sebagai senyawa metabolit sekunder. Laville *et al.* (2009) mengisolasi senyawa alkaloid baru jenis pirolidin yang diberi nama *Clathriadi acid* dan *Norbatzelladine L* dari *sponge Clathria calla* yang diuji aktivitasnya terhadap sel kanker (**Gambar 3**).



**Gambar 3.** Senyawa alkaloid dari *sponge Clathria calla* (Laville *et al.*, 2009)

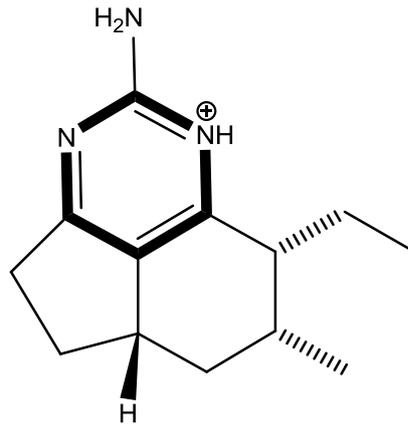
### b. Alkaloid Pirimidin

Pirimidin merupakan senyawa organik dengan rumus kimia  $C_4H_4N_2$ . Senyawa ini termasuk senyawa amina heterosiklik, memiliki enam anggota cincin yang terdiri dari empat atom karbon serta dua atom nitrogen pada posisi satu dan tiga dalam cincin, dengan struktur sebagai berikut:

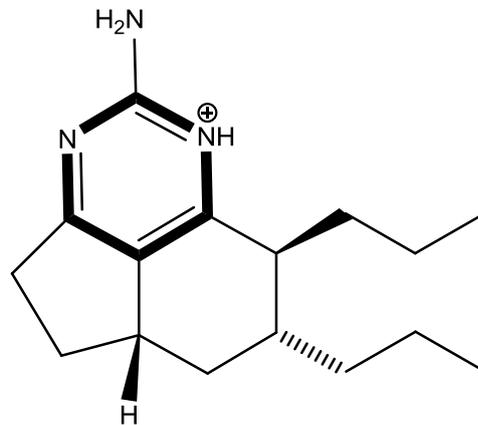


**Gambar 4.** Struktur Pirimidin

Senyawa alkaloid pirimidin dengan nama Mirabilin F dan G (**Gambar 5**) diisolasi dari *sponge Clathria* sp. Australia Selatan (Naggar *et al.*, 2010).



Mirabilin F



Mirabilin G

**Gambar 5.** Senyawa alkaloid dari *sponge Clathria* sp. (Naggar *et al.*, 2010)

## E. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

### 1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen-komponen atau senyawa aktif secara fisik dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip ekstraksi didasarkan pada distribusi senyawa yang terlarut (Khopkar, 2002).

Hukum Distribusi Nernts digunakan untuk menentukan perbandingan antara konsentrasi zat terlarut dalam kedua pelarut, baik pelarut organik maupun pelarut air, dengan persamaan berikut :

$$K_D = \frac{C_O}{C_A}$$

$K_D$  = koefisien distribusi atau koefisien partisi

$C_O$  = konsentrasi zat organik

$C_A$  = konsentrasi zat air

Pada kondisi ideal dan tidak terjadi asosiasi, disosiasi atau polimerisasi, maka harga  $K_D$  sama dengan harga Angka banding distribusi (D). Angka banding distribusi menyatakan perbandingan konsentrasi total zat terlarut dalam pelarut organik dan pelarut air. Sehingga banyaknya zat yang terekstraksi dapat ditentukan dengan persamaan berikut:

$$\%E = \frac{100 D}{D + \frac{V_A}{V_O}}$$

Persamaan di atas dapat dibuktikan bahwa banyaknya zat yang akan terekstrak semakin besar jika harga  $V_A/V_O$  diperkecil, artinya sama dengan memperbesar volume fasa organik. Namun demikian dapat dibuktikan bahwa proses ekstraksi akan semakin efisien, jika ekstraksi dilakukan secara berulang kali dengan jumlah volume fasa organik yang sama. Bila n kali ekstraksi secara terpisah dengan menggunakan volume fasa organik yang sama, maka banyaknya zat terlarut yang tertinggal dalam fasa air adalah :

$$W_n = W_A \left( \frac{V_A}{DV_O + V_A} \right)^n$$

(Ayuni dan Yuningrat, 2014).

Metode ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi cair-cair (partisi).

#### **a. Maserasi**

Maserasi adalah salah satu jenis metoda ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin. Hal ini menguntungkan untuk senyawa pada suatu sampel yang tidak tahan panas, karena struktur senyawa tidak mudah rusak. Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan senyawa metabolit sekunder berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel pada pelarut organik dalam waktu yang relatif lama, suhu ruang, dan terlindung dari cahaya dimana pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Larutan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (Harbone, 1996).

Kelebihan dari maserasi yaitu alat yang dipakai sederhana (wadah perendam), biaya operasionalnya relatif rendah. Pada proses maserasi, dilakukan tanpa pemanasan, maka hal ini menguntungkan untuk beberapa struktur senyawa yang dapat rusak pada suhu tinggi, akibat dari terdegradasinya suatu senyawa tersebut. Maserasi juga memiliki kelemahan yaitu prosesnya membutuhkan waktu relatif lama, menggunakan pelarut yang relatif banyak.

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

Ekstraksi cair-cair (partisi) merupakan pemisahan komponen kimia di antara 2 fase pelarut yang tidak saling bercampur. Biasanya fase yang satu adalah fase air dan fase lainnya yaitu fase pelarut organik, seperti diklorometan, dietil eter, etil asetat, atau kloroform. Kedua fase tersebut tidak bercampur, sehingga terbentuk dua lapisan, dan fase yang memiliki massa jenis lebih besar berada di bawah. Senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut yang semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2002).

Dalam hal ini, pemisahan zat polar dan nonpolar dapat dilakukan dengan ekstraksi cair-cair (partisi) menggunakan corong pisah. Pengocokan bertujuan memperluas area permukaan kontak di antara kedua pelarut sehingga pendistribusian zat terlarut di antara keduanya dapat berlangsung dengan baik. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah setelah pengocokan (Khopkar, 2002).

## **2. Kromatografi**

Kromatografi merupakan metode pemisahan komponen pada suatu sampel yang didasarkan atas perbedaan laju distribusi komponen sampel diantara dua sampel yang tidak saling melarut. Pemisahan dengan metode kromatografi dilakukan dengan cara memanfaatkan sifat-sifat fisik dari sampel, seperti kelarutan, adsorpsi, keatsirian, dan kepolaran. Kelarutan merupakan kecenderungan molekul

untuk melarutkan dalam cairan. Adsorpsi penyerapan adalah kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus (Johnson dan Stevenson, 1991). Dalam penelitian ini dilakukan pemisahan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), *Medium Pressure Liquid Chromatography* (MPLC), dan Kromatografi Kolom (KK).

#### **a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Pada dasarnya KLT digunakan untuk memisahkan komponen-komponen berdasarkan perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang atau eluen (Hostettman dkk, 1995). Senyawa yang teradsorpsi lebih kuat dalam fase diam tidak akan bergerak jauh dibandingkan dengan senyawa yang teradsorpsi lebih lemah. Data KLT memberikan informasi seperti komponen di dalam sampel dan tingkat kepolaran komponen dalam suatu senyawa. KLT juga digunakan untuk memilih komposisi eluen yang memberikan pola pemisahan yang paling baik pada kolom kromatografi.

Kromatografi lapis tipis pada umumnya fase diam yang digunakan adalah silika gel, dimana senyawa polar akan memiliki afinitas besar terhadap fase gerak, dan bermigrasi lambat ke atas tidak seperti halnya pelarut. Plat silika ( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) memiliki sifat elektropositif yang menyebabkan fase diam ini bersifat sangat polar. Oleh karena itu, semakin polar suatu molekul yang akan dipisahkan maka akan semakin kuat kekuatan menarik fase diam tersebut. Deteksi bercak digunakan 2 cara, yaitu fisika dan kimia.

Deteksi bercak dengan cara fisika, digunakan sinar UV. Pendeteksian dengan menggunakan sinar UV akan menghasilkan penampakan senyawa yang mengalami fluoresensi. Senyawa yang mengabsorpsi sinar UV akan tampak sebagai daerah gelap di bawah UV. Panjang gelombang UV yang sering digunakan yaitu 254 nm (paling rendah) dan 366 nm (paling tinggi).

Deteksi bercak dengan cara kimia, yaitu dengan mereaksikan bercak menggunakan pereaksi spesifik melalui penyemprotan lalu dipanaskan dengan tujuan untuk mengoksidasi sampel organik yang akan tampak sebagai bercak berwarna. Pendeteksian suatu senyawa alkaloid dalam teknik KLT dapat dilakukan dengan metode visualisasi yang umum digunakan adalah Dragendorff dan serium sulfat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid (N tersier) dalam campuran yang ditandai dengan timbulnya noda *orange* pada hasil uji KLT. Pereaksi serium sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel dengan ditandai timbulnya noda berwarna coklat kehitaman.

Distribusi komponen senyawa sampel dihitung dengan membandingkan jarak elusi yang ditempuh senyawa dengan jarak tempuh eluen, biasa disebut sebagai  $R_f$  (*Retention factor*), secara sistematis dinyatakan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Semakin besar nilai  $R_f$  sampel maka semakin besar pula jarak Bergeraknya senyawa tersebut pada plat KLT. Saat membandingkan dua sampel yang berbeda di bawah kondisi kromatografi yang sama, nilai  $R_f$  akan besar bila senyawa tersebut kurang polar (plat silika) akibat adanya interaksi antara senyawa dengan

gugus –OH yang terdapat pada plat silika. Nilai  $R_f$  dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa. Bila identifikasi nilai  $R_f$  memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik sama atau mirip. Bila nilai  $R_f$  berbeda, senyawa tersebut dapat dikatakan merupakan senyawa yang berbeda. Pada saat uji kromatografi lapis tipis  $R_f$  yang baik yaitu tidak lebih dari 0,5 (Tsuda, 2004).

Kelebihan KLT yaitu :

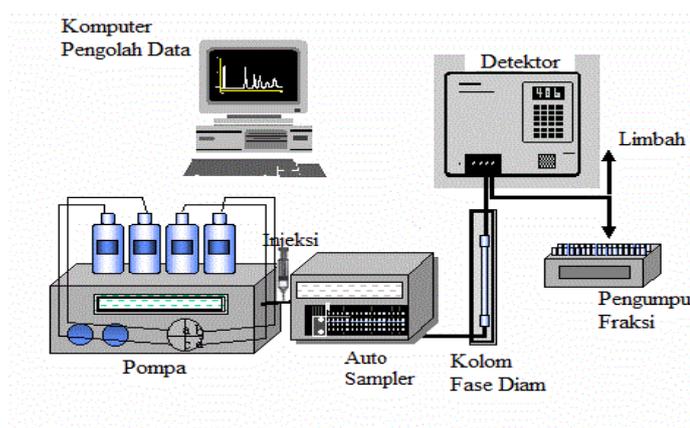
- Hanya membutuhkan sedikit pelarut
- Waktu elusi lebih pendek dibandingkan kromatografi kertas
- Biaya yang dibutuhkan terjangkau
- Jumlah perlengkapan sedikit
- Preparasi sampel yang mudah
- Dapat digunakan untuk memisahkan senyawa hidrofobik (lipid dan hidrokarbon) yang dengan metode kertas tidak bisa (Gandjar dan Rohman, 2007)

KLT memiliki beberapa kekurangan yaitu :

- Butuh ketekunan dan kesabaran untuk mendapatkan hasil yang diharapkan
- Memerlukan waktu yang cukup lama jika tidak dilakukan dengan tekun
- Butuh sistem *trial and error* untuk menentukan sistem eluen yang cocok

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

MPLC merupakan jenis kromatografi preparatif, karena MPLC menggunakan kolom yang lebih besar dan tujuan kerjanya adalah pemurnian komponen senyawa dari jumlah sampel yang lebih besar. MPLC bekerja pada kondisi tekanan sedang berkisar antara 10–50 barr, sehingga proses pemisahan tidak terlalu cepat dan menjadikan proses pemisahan lebih optimal meskipun dalam ukuran jumlah sampel yang lebih besar. MPLC merupakan kromatografi dengan resolusi tinggi dengan waktu pemurnian yang relatif singkat (Sticher, 2007).



**Gambar 6.** Skema kromatografi preparatif

MPLC dilengkapi dengan dua buah pompa yang berguna untuk mendorong fasa gerak masuk dan bergerak melalui kolom. Pompa yang dipakai dalam MPLC memiliki sistem pompa yang kuat dan tahan terhadap bahan kimia, sistem operasinya dilengkapi tiga buah piston untuk melakukan flash kromatografi, memiliki pengatur laju alir yang dapat diatur waktu alirannya per mL dan bekerja pada tekanan hingga 50 barr/725 psi. Pada penggunaan MPLC biasanya digunakan deteksi dengan detektor UV-Vis 220 nm dan 254 nm. Serapan pada

220 nm menunjukkan adanya komponen yang bersifat UV aktif secara umum.

Serapan 254 nm menunjukkan adanya ikatan rangkap berkonjugasi.

Penelitian ini dilakukan menggunakan MPLC dengan sephadex LH-20 sebagai fase diam. Prinsip sephadex yaitu memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan ukuran partikel atau berat molekul (Day dan Underwood, 2002). Keuntungan MPLC yaitu salah satu teknik pemisahan senyawa yang dapat digunakan dalam jumlah yang besar dengan waktu yang relatif singkat. Selain itu, fase diam yang digunakan pada saat pemurnian dapat digunakan kembali pada proses pemurnian senyawa lainnya.

### **c. Kromatografi Kolom (KK)**

Kromatografi kolom diterapkan secara luas untuk pemisahan senyawa-senyawa hasil alam khususnya metabolit sekunder. Pemisahan dapat terjadi dikarenakan perbedaan daya serap atau partisi fase diam terhadap komponen-komponen sampel yang akan dipisahkan yang digerakkan oleh fase gerak (eluen). Pelarut (fase gerak) yang sesuai terhadap sampel dalam suatu kolom kaca vertikal berisi fase diam dibiarkan mengalir melalui kolom akibat gaya gravitasi. Dalam kolom akan terjadi kesetimbangan antara zat terlarut yang diadsorpsi adsorben dan pelarut yang mengalir melewati kolom, sehingga terjadi pola pemisahan dari masing-masing komponen senyawa berdasarkan sifat kepolarannya (Poole, 2009).

## F. Spektroskopi

Salah satu teknik yang dapat digunakan dalam penentuan struktur dari suatu senyawa organik adalah teknik spektroskopi. Teknik spektroskopi didasarkan pada interaksi antara energi cahaya dan materi (Fessenden dan Fessenden, 1986). Radiasi elektromagnetik tersebut dapat berupa radiasi sinar  $\gamma$ , sinar-X (X-ray), UV-Vis (ultra ungu-tampak), infra merah (IR), gelombang mikro, dan gelombang radio. Metode spektroskopi yang dipakai pada penelitian ini antara lain, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Mass Spectroscopy* (MS).

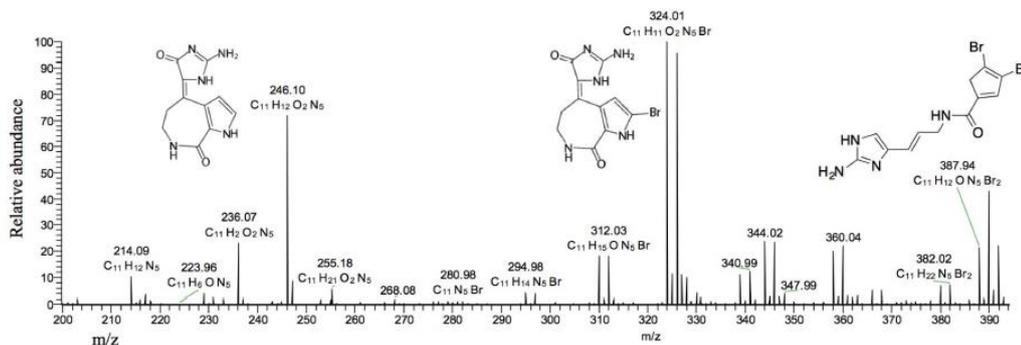
### a. *Mass Spectroscopy* (MS)

*Mass Spectroscopy* (MS) digunakan untuk mengetahui berat molekul (g/mol) dari molekul yang belum diketahui dan mengetahui pola pemecahan (fragmentasi) dari suatu molekul organik. Rekonstruksi terhadap pemecahan dan dipandu dengan interpretasi data spektra FT-IR dan NMR akan dapat menentukan struktur molekul organik yang belum diketahui. Analisis spektroskopi massa berfungsi untuk menghasilkan berkas sinar kation dari zat, berkas kation menjadi bentuk spektrum massa ( $m/z$ ), mendeteksi, dan mencatat nilai massa relatif ( $m/z$ ) atau menentukan bobot molekul suatu senyawa (Silverstein *et al.*, 2005). Prinsip spektroskopi massa yaitu suatu sampel dalam keadaan gas akan dibombardir oleh energi dengan elektron yang tinggi (energi potensial ionisasi rata-rata 185-300 kkal/mol), dapat menyebabkan elektron dari molekul yang terdapat dalam sampel akan lepas dan menghasilkan ion organik (Silverstein *et al.*, 2005).

Pada identifikasi senyawa alkaloid menggunakan MS, *electrospray ionization* (ESI) merupakan metode ionisasi yang digunakan dan dikombinasikan dengan *time of-flow* (TOF) sebagai metode pemisahan. Pada spektrometer massa, metode pemisahan *time of-flow* (TOF) sering digunakan karena keuntungannya yaitu memiliki sensitifitas yang baik dan dapat digunakan untuk menganalisis senyawa dengan berat molekul yang besar (Silverstein *et al.*, 2005).

Salah satu senyawa alkaloid dari *sponge* yang berhasil dianalisis menggunakan MS yaitu senyawa *N-methylniophatyne A*. Senyawa ini diisolasi dari *sponge Xestospongia sp.*, hasil analisis menggunakan *electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry* (ESI-TOF-MS) menunjukkan puncak ion molekul  $[M+Na]^+$  pada  $m/z$  381 dan rumus molekul ditentukan sebagai  $C_{23}H_{38}N_2O$  dengan *high-resolution* (HR-) ESI-TOF-MS. Hasil analisis juga menunjukkan fragmen pada  $m/z$  214, 202, dan 190 menggambarkan adanya alkuna pada posisi C-15 dan C-16 (Arai *et al.*, 2016).

Identifikasi senyawa alkaloid lain menggunakan spektroskopi MS yaitu hasil analisis *sponge Stylissa carteri*. O'Rourke *et al.* (2016) melakukan analisis *sponge Stylissa carteri* dari hasil HPLC untuk menentukan senyawa fraksi 2 dan 6 yang akan digunakan sebagai senyawa anti HIV-1. Berdasarkan spektrum LC-MS menunjukkan terdapat senyawa *debromohymenialdisine* (DBH,  $m/z$   $[M + H]^+$  246,  $C_{11}H_{12}N_5O_2$ ), *hymenialdisine* (HD, *10Z-hymenialdisine* ( $m/z$   $[M + H]^+$  324,  $C_{11}H_{11}BrN_5O_2$ ), dan oroidin ( $m/z$   $[M + H]^+$  389,  $C_{11}H_{12}Br_2N_5O$ ) (Gambar 7).



**Gambar 7.** Data spektrum LC-MS hasil analisis dari *sponge Stylissa carteri* (O'Rourke *et al.*, 2016).

### b. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Spektroskopi inframerah (IR) merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam suatu senyawa. Pada spektroskopi inframerah (IR), senyawa organik akan menyerap berbagai frekuensi radiasi elektromagnetik inframerah. Molekul-molekul senyawa akan menyerap sebagian atau seluruh radiasinya. Senyawa organik memiliki energi ikatan kovalen yang berbeda-beda, sehingga menghasilkan jenis vibrasi dan serapan yang berbeda-beda pada suatu spektrum inframerah. Spektrum (IR) merupakan grafik antara panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) dan persen transmisi (%T) atau absorbansi (A) (Silverstein *et al.*, 2005).

Jika radiasi inframerah dilewatkan melalui sampel senyawa organik, maka terdapat sejumlah energi diserap dan terdapat pula yang ditransmisikan tanpa diserap. Molekul yang menyerap energi inframerah akan mengalami perubahan energi vibrasi dan perubahan tingkat energi rotasi sehingga menghasilkan suatu frekuensi khas (Silverstein *et al.*, 2005). Serapan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR), umumnya untuk senyawa alkaloid memberikan serapan

khas pada daerah frekuensi  $3480\text{-}3205\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{-N-H}$ ),  $1660\text{-}1480\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{-C=N-}$ ),  $1350\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{-C-N-}$ ) dan beberapa serapan lainnya yang khas pada masing-masing senyawa (McMurry, 2008).

Beberapa senyawa metabolit alkaloid dari *sponge* telah berhasil diidentifikasi dengan spektroskopi IR. Kusama *et al.* (2014) berhasil mengisolasi senyawa alkaloid *bromopyrrole* yang diberi nama *Agelamadins A* dari *sponge Agelas* sp. Pada senyawa *Agelamadins A* yang diperoleh, hasil identifikasi dari data IR yang didukung dengan UV menunjukkan pada sampel terdapat penyerapan khas bagian *pyrrole amide* dari unit umum sebuah alkaloid *bromopyrrole*  $\{\nu_{\text{max}} 1685\text{ cm}^{-1}$  (IR) $\}$ . Selain itu, Arai *et al.* (2014) berhasil mengisolasi senyawa *2-methoxy-3-oxoaaptamine* dari *sponge Aaptos* sp., data IR menunjukkan adanya gugus fungsi yang terbaca pada daerah  $2926\text{ cm}^{-1}$  (aromatik),  $1870\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C=O}$ ),  $1487\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C=C}$  aromatik),  $1282\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C-O}$  eter), dan  $1086\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C-N}$ ).

Analisis pada senyawa alkaloid biasa digunakan pellet KBr (Arai *et al.*, 2016). Senyawa KBr tidak menyerap sinar inframerah, sehingga penggunaan KBr sebagai pellet sangatlah efektif. Harus diperhatikan bahwa KBr merupakan senyawa higroskopis yang dapat dengan mudah menyerap air dari udara, air yang ikut terbawa ke dalam pelet akan mengganggu spektrum dari sampel yang akan dianalisis (Silverstein *et al.*, 2005).

### **III. METODOLOGI PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2017–Maret 2018 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung. Analisis spektrofotometer IR dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung. Analisis *Mass Spectroscopy* (MS) dilakukan di BBPOM, Bandar Lampung.

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

Alat-alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas diantaranya: pipet tetes, gelas kimia, Erlenmeyer, corong pisah, labu ukur, gelas ukur. Alat-alat instrumen seperti seperangkat alat *vacuum rotary evaporator* Buchii/Rotavator R-210, neraca analitik KERN ABJ/BBJ-220-4M, satu set perlengkapan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat aluminium silika gel F<sub>254</sub> (Merck), lampu UV Kohler, seperangkat alat *Medium Pressure Liquid Chromatography* (MPLC) Buchii/Sepacoterm.

Bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi serium sulfat, akuades (air), diklorometan (DCM), metanol (MeOH), *n*-heksan (*n-hex*), etil asetat (EtOAc), *isopropylalcohol* (IPA).

## **C. Prosedur Penelitian**

### **1. Biomaterial**

Pada penelitian ini digunakan *sponge* kode 01G-05G yang diperoleh dari koleksi Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan September 2016 di Kepulauan Seribu dengan cara *scuba diving*.

### **2. Ekstraksi**

Sampel *sponge* kering dipotong kecil-kecil. Sampel *sponge*  $\pm 1,1$  kg dimaserasi dengan MeOH  $\pm 16$  L (Kotoku *et al.*, 2017) selama 24 jam (diulangi hingga 3x) dan disaring untuk memisahkan filtrat dengan residu *sponge*. Filtrat kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada temperatur 38°C dan tekanan 109 mbar hingga terbentuk ekstrak kasar. Ekstrak yang diperoleh ditempatkan dalam wadah tertutup lalu disimpan pada tempat bersih dan kering.

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

Ekstrak MeOH *sponge* selanjutnya dipartisi menggunakan corong pisah dengan pelarut EtOAc–air (1:1) (Arai *et al.*, 2016). Larutan dikocok beberapa kali dan didiamkan membentuk dua fase. Selanjutnya masing-masing fase dipisahkan sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi air dan fraksi EtOAc. Proses partisi dilakukan 3x hingga diperoleh hasil pemisahan sempurna berdasarkan hasil uji KLT. Kedua fraksi tersebut kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar. Kemudian dilakukan uji KLT untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid pada kedua fraksi. Partisi dilakukan untuk melakukan pemisahan komponen berdasarkan kepolarannya, agar diperoleh komponen alkaloid secara sempurna.

### 4. Uji Pendahuluan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraksi-fraksi hasil partisi yang akan difraksinasi dan juga fraksi-fraksi yang didapat setelah fraksinasi kemudian dilakukan uji KLT menggunakan plat silika F<sub>254</sub> sebagai fase diam. Uji KLT dilakukan menggunakan variasi pelarut EtOAc, DCM, MeOH, *n-hex*, dan IPA sebagai fase gerak. Selanjutnya divisualisasi dengan pereaksi serium sulfat dan Dragendorff. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid (gugus N-tercier) yang ditandai dengan adanya noda merah jingga (*orange*) pada hasil uji KLT. Pereaksi serium sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel yang ditandai dengan adanya noda berwarna coklat kehitaman.

Kemudian diamati dan dihitung nilai Rf dari masing-masing komponen untuk mengetahui tingkat kepolaran masing-masing komponen.

Pembuatan pereaksi serium sulfat dan Dragendorff terdapat dalam **Lampiran 2**.

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

Fraksi yang telah diketahui mengandung senyawa alkaloid dominan, selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan MPLC. Fraksinasi pada MPLC menggunakan kolom sephadex LH-20 sebagai fase diam dan MeOH–air sebagai fase gerak dengan komposisi 95% MeOH dalam air selama 30 menit pada tekanan maksimal 16 mbar. Kecepatan aliran 3,5 mL/menit dan dideteksi dengan detektor UV–Vis 210 nm dan 254 nm. Kemudian fraksi dikumpulkan berdasarkan puncak yang terdapat pada kromatogram. Fraksi yang telah dikumpulkan diuji KLT kembali dengan plat silika F<sub>254</sub> sebagai fase diam (Kotoku *et al.*, 2017) dan pelarut *isopropylalcohol* sebagai fase gerak serta divisualisasi dengan pereaksi Dragendorff untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid.

### **6. Fraksinasi menggunakan Kromatografi Kolom (KK)**

Fraksi yang telah diketahui mengandung senyawa alkaloid dominan, selanjutnya dilakukan fraksinasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom (KK).

Fraksinasi dilakukan menggunakan teknik kromatografi kolom yang dibuat dengan silika gel sebagai fase diam dan elusi dilakukan dengan gradien pelarut.

Keberadaan komponen alkaloid dari fraksi hasil pemisahan dimonitor kembali dengan metode KLT menggunakan pereaksi spesifik Dragendorff.

## **7. Karakterisasi Senyawa Alkaloid**

### **a. Karakterisasi Senyawa dengan Spektrofotometer IR**

Isolat murni dianalisis strukturnya dengan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui adanya gugus-gugus fungsi dari sampel. Sebelum dianalisis menggunakan spektrofotometer IR, sampel murni dilarutkan menggunakan MeOH. Karakteristik senyawa alkaloid pada spektrum IR ditandai adanya gugus fungsi N tersier pada vibrasi renggang di daerah sekitar  $1300-900\text{cm}^{-1}$  (Silverstein *et al.*, 2005). Pita serapan  $1640\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{C}=\text{N}-$ ) dan  $3376\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{N}-\text{H}$ ) (McMurry, 2008).

### **b. Karakterisasi Senyawa dengan *Mass Spectroscopy* (MS)**

Sampel yang sudah murni dianalisis dengan *Mass Spectroscopy* (MS). *Mass Spectroscopy* digunakan untuk mengetahui karakteristik berat molekulnya (g/mol) dan bagaimana pola pemecahan (fragmentasi) dari suatu molekul target, serta untuk mengetahui formula molekul (Silverstein *et al.*, 2005).

Ringkasan metodologi dalam penelitian ini terdapat dalam **Lampiran 1**.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Telah berhasil diisolasi alkaloid yang memiliki kerangka mirip senyawa mirabilin dari *sponge Clathria* sp.
2. Karakterisasi MS terlihat, struktur yang mungkin berdasarkan fragmen m/z 366 untuk senyawa 04GP2S3K4 yaitu dengan formula molekul  $C_{25}H_{38}N_2$ .
3. Interpretasi spektrum IR menunjukkan khas senyawa alkaloid, terlihat adanya gugus amina sekunder ( $-N-H$ ) pada  $3376\text{ cm}^{-1}$  dan adanya ikatan amina tersier ( $C=N$ ) pada pita serapan  $1640\text{ cm}^{-1}$ , adanya gugus  $=C-H$  terkonjugasi pada  $3138\text{ cm}^{-1}$  dan ikatan  $C=C$  alkena pada  $1401\text{ cm}^{-1}$ .

### B. Saran

Saran untuk memperbaiki kekurangan dari hasil yang berkaitan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan analisis struktur lebih lanjut (1D, 2D NMR) untuk memperoleh informasi lengkap senyawa 04GP2S3K4 yang berhasil diisolasi dari *sponge Clathria* sp.

2. Perlu dilakukan uji bioaktivitas mengenai senyawa 04GP2S3K4 dari *sponge Clathria* sp. yang berhasil diisolasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ayuni, N. P. S. dan Yuningrat, N. W. 2014. *Kimia Analitik Analisis Kualitatif dan Pemisahan Kimia*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 123–128.
- Arai, M., Han, C., Yamano, Y., Setiawan, A., and Kobayashi, M. 2014. Aaptamines, Marine Spongean Alkaloids, as Anti-dormant Mycobacterial substances. *J. Nat. Med.*
- Arai, M., Kamiya, K., Shin, D., Matsumoto, H., Hisa, T., Setiawan, A., Kotoku, N., and Kobayashi, M. 2016. N-Methylpiperidine A, a New 3-Alkylpyridine Alkaloid as an Inhibitor of the Cancer Cell Adapted to Nutrient Starvation, from an Indonesian Marine Sponge of *Xestospongia* sp. *Chem. Pharm. Bull.* 64: 766–771.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H. G., and Prinsep, M. R. 2016. Marine Natural Product. *Nat. Prod. Rep.* 33: 382–431.
- Cetovic, H. dan Lada, L. B. 2003. HMGB2 Protein from the Marine Sponge *Suberites domuncula*. *Journal of Food Technol.* 41: 361–365.
- Day, R. A., dan Underwood, A. L. 2002. *Quantitative Analysis*. Sixth Edition. Prentice-Hall. New York.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1986. *Kimia Organik Jilid I Edisi Ketiga*. Alih Bahasa Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Erlangga. Jakarta. 311–362.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung.
- Harsono, B. 2001. *Makalah Menuju Penyempurnaan Hukum Tanah Nasional dalam Hubungannya dengan TAP MPR RI IX/MPR/2001*. Universitas Trisakti. Jakarta.
- Herbert, R. B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang.

- He, W. F., Xue, D. Q., Yao, L. G., Li, J. Y., Li, J., and Guo, Y. W. 2014. Hainanerectamines A-C, Alkaloids from the Hainan Sponge *Hyrtios erecta*. *Mar. Drugs*. 12: 3982–3993.
- Hostettman, K., Hostettman, M., dan Marston, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif*. Alih bahasa oleh K. Padmawinata. ITB. Bandung. 1–38.
- Johnson, E. L. dan Stevenson, R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung. 50–55.
- Khopkar, S. M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh Saptohardjo, A. Universitas Indonesia. Jakarta. 84–311.
- Kotoku, N., Ishida, R., Matsumoto, H., Arai, M., Toda, K., Setiawan, A., Muraoka, O., and Kobayashi, M. 2017. Biakamides A-D, Unique Polyketides from a Marine Sponge, Act as Selective Growth Inhibitors of Tumors Cells Adapted to Nutrient Starvation. *J. Org. Chem.* 82: 1705–1718.
- Kumar, M. S. and Pal, A. K. 2016. A review of Bioactive Compounds from Marine Organisms with Special Mention on the Potential of Marine Sponges in Pharmacological Applications. *J. Mar. Biol. Ass. India*. 58: 83–91.
- Kusama, T., Tanaka, N., Sakai, K., Gono, T., Fromont, J., Kashiwada, Y., and Kobayashi, J. 2014. Agelamadins A and B, Dimeric Bromopyrrole Alkaloids from a Marine Sponge *Agelas* sp. *Org. Lett.* Xxx: A–C.
- Laville, R., Thomas, O. P., Berrue, F., Marquez, D., Vacelet, J., and Amade, P. 2009. Bioactive Guanidine Alkaloids from Two Caribbean Marine Sponges. *J. Nat. Prod.* xxx.
- McMurry, J. 2008. *Organic Chemistry*. 7<sup>th</sup> edition. Nelson Education, Ltd. Canada.
- Melawaty, L. and Pasau, K. 2015. The Profile of Secondary Metabolites of Sponge *Clathria reinwardtii* Extract as a Result of Fe Accumulation in Spermonde Archipelago. *Advances in Biological Chemistry*. 5: 266–272.
- Mokhlesi, A., Stuhldreier, F., Wex, K. W., Berscheid, A., Hartmann, R., Rehberg, N., Surechatchaiyan, P., Chaidir, C., Kassack, M. U., Kalscheuer, R., Oesterhelt, H. B., Wesselborg, S., Stork, B., Daletos, G., and Proksch, P. 2017. Cyclic Cystine-Bridged Peptides from the Marine Sponge *Clathria basilana* Induce Apoptosis in Tumor Cells and Depolarize the Bacterial Cytoplasmic Membrane. *J. Nat. Prod.* Xxxx: A–L.

- Naggar, M. E., Conte, M., and Capon, R. J. 2010. Mirabilins revisited: Polyketide Alkaloids from a Southern Australian Marine *Sponge Clathria* sp. *Org. Biomol. Chem.* 8: 407–412.
- O'Rourke, A., Kremb, S., Bader, T. M., Helfer, M., Kopplin, P. S., Gerwick, W. H., Werner, R. B., and Voolstra, C. R. 2016. Alkaloids from the *Sponge Stylissa carteri* Present Prospective Scaffolds for the Inhibition of Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1). *Mar. Drugs.* 14: 1–10.
- Poole, C. 2009. Handbook of Method and Instrumentation in Separation Science. *Academic Press.* 1: 72.
- Putra, M. Y. and Jaswir, I. 2014. The Alkaloids from Indonesian Marine Sponges. *Oceanography.* 2: 1–10.
- Ravichandran, S., Wahidullah, S., and Anbuhezhan, R. M. 2011. Antimicrobial Activity of Marine *Sponge Clathria indica*. 37: 428–435.
- Rudi, A., Yosief, T., Loya, S., Hizi, A., Schleyer, M., and Kashman, Y. 2001. Clathsterol, a Novel Anti-HIV-1 RT Sulfated Sterol from the *Sponge Clathria* Species. *J. Nat. Prod.* 64: 1451–1453.
- Silverstein, R. M., F.X. Webster, and D.J. Kiemle. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds Seventh Edition*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 1–22.
- Sticher, O. 2007. Natural Product Isolation. *Nat. Prod. Rep.* 25: 517–554.
- Stuart, B. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application.* 71–83.
- Tsuda, Y. 2004. *Isolation of Natural Products*. HEJ. Research Institute of Chemistry. University of Karachi. Pakistan.
- Yu, H. B., Yang, F., Sun, F., Li, J., Jiao, W. H., Gan, J. H., Hu, W. Z., and Lin, H. W. 2014. Aaptamine Derivatives with Antifungal and Anti-HIV-1 Activities from the South China Sea *Sponge Aaptos aaptos*. *Mar. Drugs.* 12: 6003–6013.