

ANALISIS DEREPLIKASI SUBSTANSI BIOAKTIF FRAKSI POLAR *Petrosia* sp. DARI PERAIRAN KEPULAUAN SERIBU

Hedi Indra Januar^{*)}, Lilis Patmaesari^{**)}, Thamrin Wikanta^{*)} dan Ekowati Chasanah^{*)}

ABSTRAK

Sebagai bagian dari serangkaian riset untuk menemukan senyawa aktif dari biota spons laut, telah dilakukan analisis dereplikasi terhadap fraksi polar *Petrosia* sp dari perairan Kepulauan Seribu. Metode dereplikasi dilakukan dengan menggunakan FT-IR (*Fourier Transfer – InfraRed*) dan Proton-Selektif NOE (*Nuclear Overhauser Effects*)-NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) yang diarahkan oleh sistem fraksinasi panduan bioasai menggunakan reagen DPPH (2,2 difenil pikril hidrazil). Hasil analisis menunjukkan bahwa subfraksi polar dari biota ini memiliki rendemen 22,47 % dan nilai IC₅₀ 48,093 ppm untuk menghambat radikal bebas DPPH. Analisis kimia instrumentasi menunjukkan bahwa subfraksi aktif ini memiliki dua senyawa mayor yang memiliki gugus karbonil (C=O), gugus nitrogen ikatan rangkap dua (N=C), dan sistem siklik konjugasi ternitrogenasi. Determinasi data spektroskopi ini terhadap pustaka digital MarinLit (2007) menunjukkan bahwa kedua senyawa aktif tersebut merupakan trigonelin dan aminozooanemonin, yaitu senyawa bioaktif umum pada organisme laut yang memiliki peran primer sebagai regulator osmosis.

ABSTRACT: *Dereplication analysis of bioactive substances in polar fraction of Petrosia sp. from Seribu Islands waters. By: Hedi Indra Januar, Lilis Patmaesari, Thamrin Wikanta and Ekowati Chasanah*

As a part of research on exploration of active compounds from marine sponges, dereplication analysis on polar fractions of Petrosia sp from Seribu Islands waters has been conducted. The dereplication method used FT-IR (Fourier Transfer – InfraRed) and Proton-Selective NOE (Nuclear Overhauser Effects)-NMR (Nuclear Magnetic Resonance) that guided by bioassay fractionation system using DPPH (2,2 diphenyl picrilhidrazil) reagent. Results showed that the yield of active sub fraction from this organism was 22.47% and the IC₅₀ value in DPPH free radical inhibition was 48.093 ppm. Chemical instrumentation analysis showed that this active sub fraction consisted of two major compounds which had functional groups of carbonyl (C=O), nitrogen double bonds (N=C), and nitrogenous cyclic conjugation system. Spectroscopic data determination through digital library MarinLit (2007) indicated that those compounds were trigonelline and aminozooanemonin, a common bioactive substances in marine organisms that have primary role as an osmotic regulator.

KEYWORDS: *dereplication analysis, DPPH, Petrosia sp., aminozooanemonin, trigonelline*

PENDAHULUAN

Sifat senyawa polar yang mudah terdifusi dalam air membuat senyawa-senyawa bahan alami dapat digunakan sebagai model yang baik untuk sintesis pengembangan senyawa biomedis. Akan tetapi, dengan banyaknya produk bahan alami dari biota spons yang telah tereksplorasi dan didokumentasikan dengan baik, maka permasalahan umum pada riset bahan alami dari spons adalah mudahnya terjadi replikasi analisis purifikasi dan determinasi terhadap senyawa-senyawa yang telah terpublikasi. Dengan tingginya biaya riset purifikasi dan uji biologis, langkah replikasi isolasi dan identifikasi senyawa yang telah terpublikasi merupakan hal yang harus dihindari jika riset bertujuan untuk menemukan senyawa jenis baru.

Oleh karena itu, proses determinasi senyawa sedini mungkin pada tahapan purifikasi dalam analisis senyawa bahan alami perlu dilakukan agar tidak terjadi replikasi pemurnian sampai tahapan isolasi untuk senyawa-senyawa yang telah terpublikasi. Tahapan ini dikenal dengan nama proses dereplikasi. Pada awalnya prosedur ini berkembang dengan menggunakan analisis bioasai tertentu (misalnya uji antitumor yang umum menggunakan reagen MTT) dan analisis spektroskopi kimia menggunakan instrumentasi kromatografi cair kinerja tinggi yang mempunyai detektor ultraviolet dan massa (KCKT-UV-MS). Namun, seiring dengan kemajuan teknologi, maka spektra massa resolusi rendah (satu angka di belakang koma), tidak cukup untuk memberikan identifikasi senyawa yang terpercayanya. Instrumentasi

^{*)} Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan

^{**)} Mahasiswa pada Fakultas Farmasi Universitas Pancasila

yang digunakan pada analisis ini berkembang menjadi penggunaan spektrometer massa resolusi tinggi, infra merah, atau NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*). Kombinasi instrumentasi yang digunakan pada analisis umumnya tergantung pada subjektivitas dari analisis. Pada elucidasi struktur senyawa, penggunaan NMR pada analisis dereplikasi adalah yang paling baik dari metode-metode lainnya.

Hal ini menjadi dasar dilaksanakannya penelitian ini, yaitu uji dereplikasi menggunakan kombinasi instrumentasi FT-IR (*Fourier Transfer – Infra Red*) dan analisis proton-selektif NOE (*Nuclear Overhauser Effects*)-NMR. Penggunaan FT-IR akan mendapatkan gugus fungsi pada sampel. Selain itu, kombinasi analisis proton dan selektif NOE pada NMR akan memberikan informasi relasi antar geser kimia (*chemical shift*) proton pada spektra ^1H , sehingga kelompok-kelompok senyawa pada spektra dapat ditentukan jumlahnya dan bentuk umum strukturnya. Analisis dereplikasi yang dilakukan menggunakan panduan reagen DPPH (2,2 difenil pikril hidrazil). Reagen ini dipilih karena relatif murah dan cepat jika dibandingkan dengan uji menggunakan reagen sitotoksik lainnya seperti MTT [3-(4,5-dimetilthiazol-2-yl) 2,5-difenil tetrazolium bromida] yang umum untuk sampel invertebrata laut. Walaupun reagen DPPH umumnya digunakan sebagai pengarah pada penemuan senyawa antioksidan untuk produk nutrasetikal makanan tambahan, bukan pada eksplorasi komponen model senyawa farmasi, namun menurut Quinn (2007), senyawa yang potensial sebagai kandidat obat farmasi memiliki ciri kandungan atom oksigen tinggi, mampu melaksanakan transfer ion, dan juga mempunyai berat molekul yang relatif rendah, selaras dengan tipe senyawa yang memiliki reaksi positif untuk menetralkan radikal bebas pada reagen DPPH. Sebagai bahan baku spons, dipilih *Petrosia* sp. dari perairan Kepulauan Seribu - DKI Jakarta, yang berdasarkan uji toksitas BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada penelitian sebelumnya (Wikanta *et al.*, 2005) memiliki potensi bioaktivitas yang baik.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi, Fraksinasi, dan Kromatografi

Pada tahap awal, biota sampel dengan bobot 100 g dimaserasi 3 kali masing-masing menggunakan 300 mL metanol teknis, lalu dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga maserat menjadi cairan kental, kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Pada tahap ini, dilakukan analisis uji DPPH pada konsentrasi 20 ppm. Selanjutnya terhadap ekstrak kasar metanol, dilakukan fraksinasi lebih lanjut menggunakan pelarut metanol (polar) dan etil

asetat (semipolar) 3 x 10 mL untuk mendapatkan fraksi polar dan semipolar. Kemudian, fraksi polar ini dipisahkan menggunakan kolom gravitasi Waters Sep-pak C_{18} 35 cc, dengan fase gerak gradien metanol-air, laju alir 1 mL/min, penampung fraksi Bio-Rad *Fraction Collector*, dan detektor spektrometer *UV-Vis Lamda 25 Perkin Elmer* pada panjang gelombang 280, 290, dan 370 nm. Hasil kolom yang menunjukkan bagian dari puncak sama digabung, lalu dilakukan uji DPPH. Sub fraksi paling aktif dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) skala analitis untuk memperoleh data karakteristik pemisahan subfraksi pada fase stasioner C18 menggunakan fase gerak gradien metanol-air dengan laju alir 1 mL/min.

Karakterisasi Fraksi Aktif

Analisis dereplikasi untuk karakterisasi senyawa aktif dalam subfraksi tersebut dilakukan menggunakan komparasi data hasil analisis instrumen FT-IR dan NMR terhadap data pustaka digital MarineLit 2007 (Blunt & Blunt, 2007). Analisis FT-IR dilakukan dengan pencampuran KBr : sampel = 200 mg : 5 mg, menggunakan FT-IR (*Perkin Elmer Spectrum One*) pada frekuensi 4000–450 cm^{-1} , jumlah pemindaian (*scan number*) 32 kali, kecepatan pemindaian (*scan speed*) 0,2 cm/s, dan resolusi 4 cm^{-1} . Analisis proton-NMR dilakukan dengan melarutkan 5 mg sampel dalam 0,6 mL pelarut deuterium metanol (MeOD) menggunakan *NMR Avance 600* dengan tabung siroprob (*Bruker*) pada 0–10 ppm dan jumlah pemindaian 16 kali. Setelah grafik proton terbentuk, geser kimia masing-masing proton diintegrasikan untuk melakukan radiasi *nuclear overhauser effects* (NOE) terhadap proton lainnya dengan jumlah pemindaian sebanyak 32 kali.

Analisis Aktivitas Antioksidan Menggunakan Uji Radikal Bebas DPPH

Prosedur uji yang dilakukan pada sub kegiatan ini didasarkan pada metode Chow *et al.* (2003) dengan sedikit modifikasi. Pertama-tama larutan blanko dibuat dari larutan 1 mL DPPH 0,1 N lalu ditambah dengan metanol hingga menjadi 5 mL. Sampel uji kemudian dibuat dengan konsentrasi 20 ppm, sesuai dengan konsentrasi batasan untuk menentukan bahwa senyawa antioksidan tersebut potensial atau tidak. Kemudian, tiap sampel yang ditakar dengan volume yang sama ditambah dengan 1 mL DPPH dan diencerkan dengan metanol hingga volume menjadi 5 mL. Setelah sampel dinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, perhitungan kuantitatif dapat dilakukan dengan mengukur absorbansi spektrometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 515 nm.

Daya inhibisi dihitung melalui rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs Standar} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Standar}} \times 100\%$$

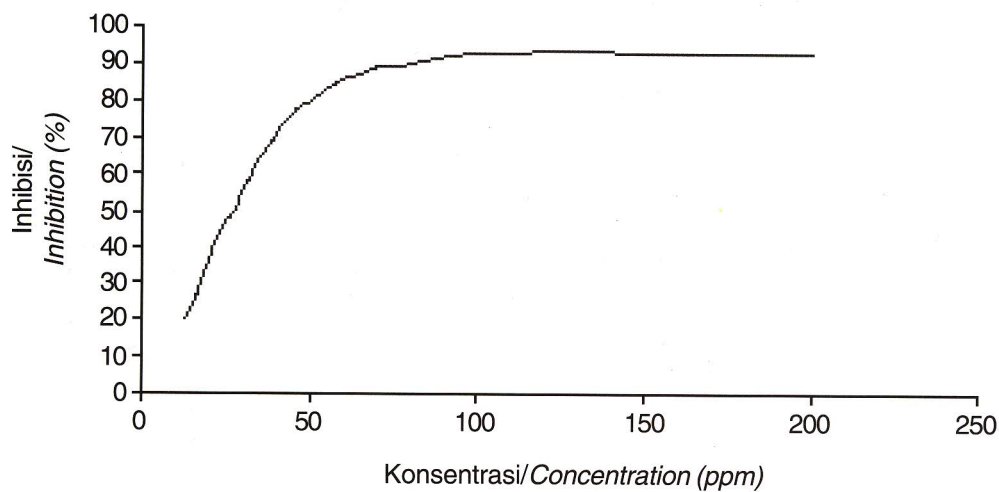
HASIL DAN BAHASAN

Pada tahapan awal dilakukan fraksinasi ekstrak kasar menjadi fraksi metanol dan fraksi etil asetat terhadap 502,1 mg ekstrak kasar metanol *Petrosia* sp. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa komponen polar (fraksi metanol) merupakan fraksi terbanyak dengan rendemen sebesar 57,20% dan komponen fraksi semipolar (etil asetat) yang hanya mempunyai rendemen sebesar 0,14%. Sisa fraksi yang tak larut dalam kedua fraksi tersebut adalah sebesar 42,66%, yang diperkirakan merupakan garam-garam pengotor yang terlarut dalam air karena metanol teknis yang dipergunakan pada maserasi awal memiliki kandungan air cukup besar. Hasil uji DPPH yang

dilakukan terhadap fraksi metanol, sebagai fraksi polar, disajikan pada Gambar 1.

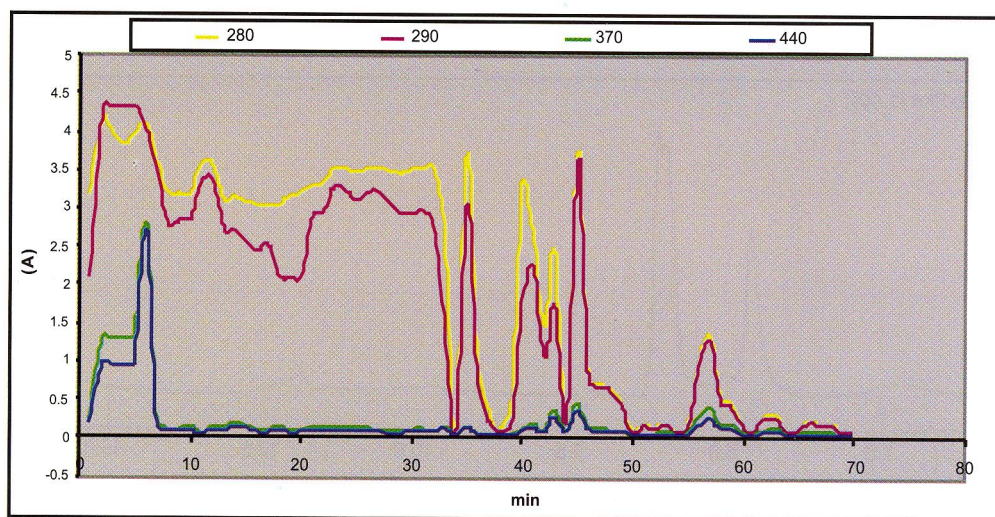
Hasil analisis menunjukkan potensi inhibisi yang cukup baik dari ekstrak kasar metanol dengan nilai IC_{50} di bawah 50 ppm. Proses selanjutnya dilakukan separasi terhadap fraksi aktif metanol menggunakan kolom Sep-pak C_8 35 cc dengan hasil seperti disajikan pada Gambar 2.

Hasil analisis DPPH secara kualitatif menunjukkan bahwa fraksi aktif terletak pada subfraksi pertama dengan waktu retensi pada menit 2–4 (menit ke 0–2 merupakan *dead volume* kolom yang merupakan waktu yang ditempuh saat eluen ditambahkan sampai terelusi, sehingga disebut dengan subfraksi 0). Pada



Gambar 1. Hubungan antara konsentrasi (ppm) fraksi metanol *Petrosia* sp. terhadap inhibisi radikal bebas DPPH.

Figure 1. Relationship between concentration (ppm) of methanol fraction of *Petrosia* sp. against DPPH free radical inhibition.



Gambar 2. Kromatogram fraksi polar *Petrosia* sp. menggunakan fase stasioner Sep-Pak C_8 dan fase gerak gradien metanol-air.

Figure 2. Chromatogram of polar fraction *Petrosia* sp. using Sep-Pak C_8 stationary phase and gradient methanol-water mobile phase.

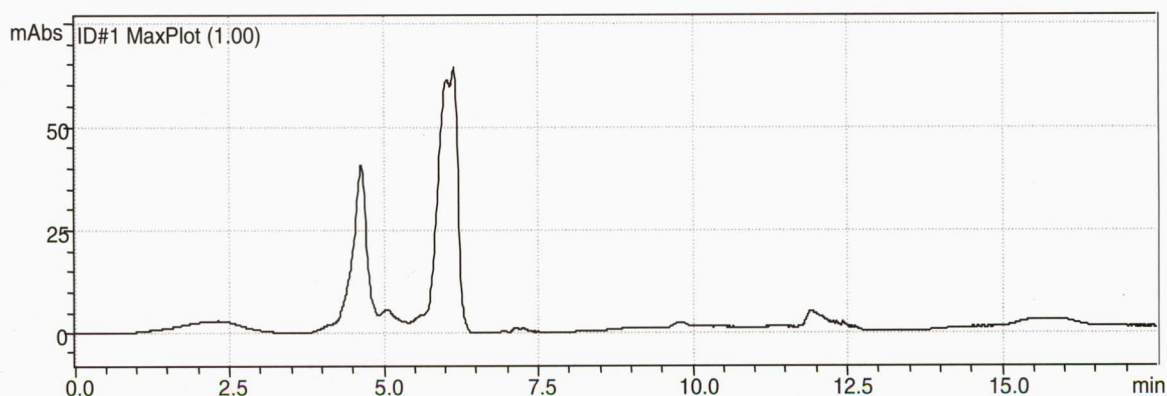
uji DPPH kualitatif pada konsentrasi 50 ppm, subfraksi ini memiliki potensi inhibisi terbesar di antara seluruh fraksi dengan daya inhibisi sebesar 48%, sedangkan pada uji kuantitatif ditemukan nilai IC_{50} sebesar 48,093 ppm untuk menghambat radikal bebas DPPH. Sub fraksi ini juga merupakan komponen terbanyak dalam fraksi polar ini, dengan rendemen sebesar 22,5% terhadap ekstrak kasar awal. Untuk mengetahui pola pemisahan senyawa-senyawa yang ada pada subfraksi tersebut secara analitis, maka dilakukan analisis KCKT menggunakan fase stasioner kolom C_{18} dan fase gerak gradien antara metanol-air. Gambar 3 memperlihatkan kromatogram hasil pemisahan tersebut.

Kromatogram di atas memperlihatkan bahwa penggunaan kolom fase balik C_{18} tidak memberikan hasil pemisahan yang baik, komponen analit terelusi bersama dengan pelarut, sehingga perkiraan kasar jumlah kelompok senyawa yang ada dalam subfraksi ini tidak dapat ditentukan. Akan tetapi, karakteristik yang sulit terpisahkan pada sistem fase balik C_{18} memberikan perkiraan yang baik, yaitu bahwa komponen yang terdapat dalam subfraksi ini merupakan senyawa-senyawa polar ionik dengan berat molekul rendah. Komponen jenis ini umumnya tidak akan tertahan pada sistem kromatografi adsorpsi karena tidak memiliki interaksi dengan fase stasioner karbon rantai panjang.

Berdasarkan hal tersebut, selanjutnya dilakukan analisis dereplikasi terhadap subfraksi ini untuk menentukan apakah pada tahapan ini telah dapat diperoleh identifikasi senyawa aktif yang telah terpublikasi. Spektra FT-IR dan proton-NMR dari subfraksi aktif ini dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.

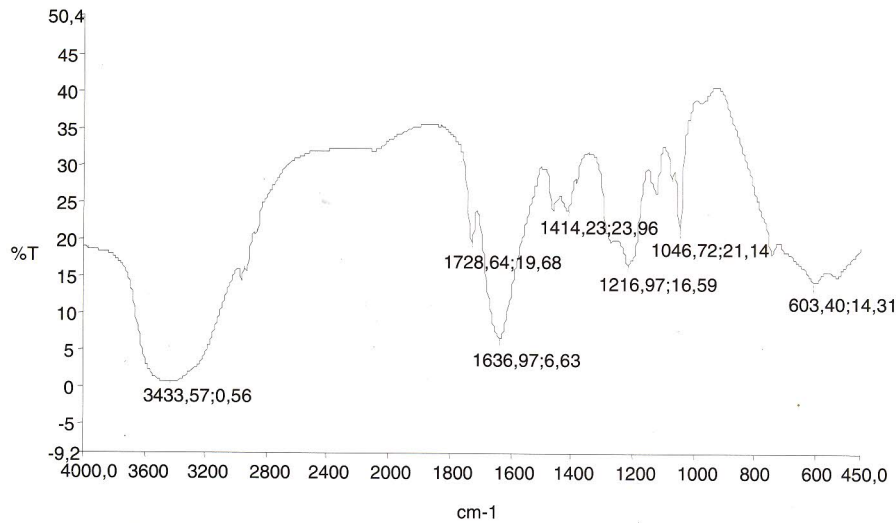
Spektra FT-IR memberikan petunjuk keberadaan gugus fungsi karbonil yang juga dipengaruhi oleh adanya gugus fungsi $N=C$, sehingga pita vibrasi karbonil menurun hingga pada area 1634 cm^{-1} . Hasil analisis proton-NMR dari subfraksi ini juga memperkuat hasil interpretasi FT-IR, dengan adanya pola pergeseran kimia di area sekitar 8 ppm, yang menunjukkan adanya gugusan nitrogen. Lebih lanjut, melalui pola integrasi proton yang diperkuat oleh analisis selektif NOE, dapat diperkirakan hubungan antara masing-masing proton pada spektra. Pola integrasi antar geser kimia hidrogen pada spektra proton-NMR menunjukkan perbandingan kuantitatif jumlah hidrogen dalam suatu geser kimia, sedangkan selektif NOE memberikan hubungan geometri ruang suatu proton dengan proton lainnya dalam satu senyawa. Jika keduanya dikombinasikan, maka analisis proton selektif NOE-NMR ini merupakan analisis cepat untuk diaplikasikan pada suatu sampel subfraksi yang memiliki kurang lebih 2-3 senyawa, dalam memilah dan mengelompokkan proton-proton yang merupakan bagian dari satu senyawa dengan proton-proton dalam senyawa lainnya. Melalui kombinasi analisis NMR di atas, diperoleh hipotesis bahwa subfraksi ini memiliki tiga senyawa mayor dengan perbandingan kasar antara 10 : 7 : 3 (selanjutnya disebut senyawa (1), (2), dan (3)), yang berasal dari integrasi proton 1(A) 1,0000 : 2(B) 0,6689 : 3(A) 0,3168. Gambar 6 menunjukkan spektra H-NMR dari Gambar 5 yang di fokuskan pada area proton 6,6 – 9,5 ppm, untuk menjelaskan perbandingan integrasi proton masing-masing senyawa mayor yang berada pada subfraksi.

Pada Gambar 6 terlihat bahwa senyawa (1) memiliki 4 proton (A, B, C, dan D), senyawa (2)

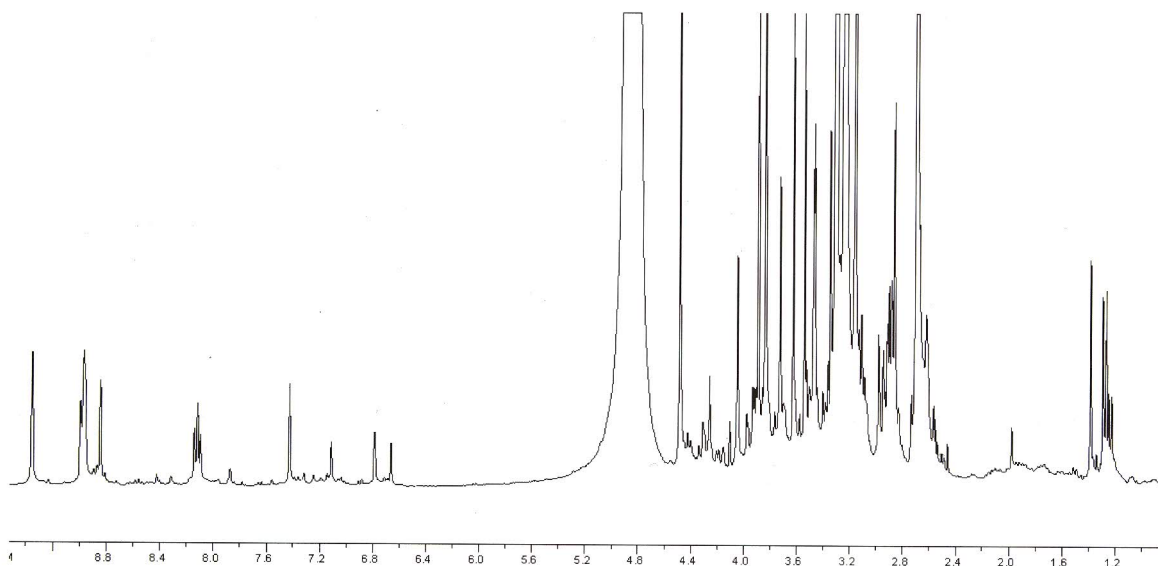


Gambar 3 Kromatogram KCKT subfraksi (1) dari fraksi polar *Petrosia* sp. menggunakan fase stasioner C_{18} analitis (4,6 x 150 mm) dan fase gerak gradien metanol-air.

Figure 3. HPLC Chromatogram of subfraction (1) of polar fraction *Petrosia* sp. using analytical C_{18} (4.6 x 150 mm) stationary phase and gradient methanol-water mobile phase.



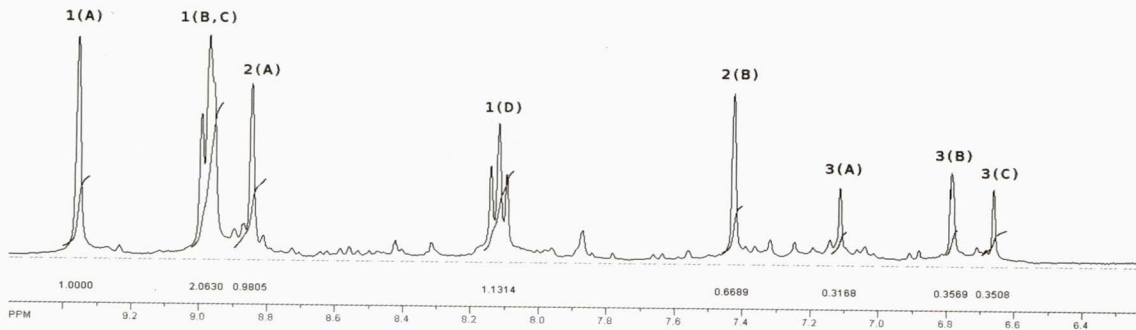
Gambar 4. Spektra FT-IR dari subfraksi (1) dari fraksi polar *Petrosia* sp.
Figure 4. FT-IR spectra of subfraction (1) of polar fraction *Petrosia* sp.



Gambar 5. Spektra Proton-NMR subfraksi (1) dari fraksi polar *Petrosia* sp.
Figure 5. Proton-NMR spectra of Subfraction (1) of polar fraction *Petrosia* sp.

memiliki 2 proton (A dan B), sedangkan senyawa (3) memiliki 3 proton (A, B, dan C). Interpretasi letak geser kimia dari masing-masing proton menunjukkan bahwa senyawa (1) dan (2) merupakan sistem siklik konjugasi yang tersubstitusi atom nitrogen, sedangkan untuk senyawa (3) merupakan suatu sistem konjugasi ikatan rangkap. Berdasarkan selektif NOE, pada senyawa (1), hidrogen (A) merupakan atom di antara nitrogen dan karbon kuartener dengan bentuknya yang singlet dan hanya memiliki NOE terhadap gugus CH_3 ammonium. Kombinasi letak triplet (D) di antara geser kimia doublet (B) dan (C) yang bertumpang tindih pada spektra terlihat juga pada NOE.

Pada senyawa (2), singlet (B) merupakan satu-satunya atom hidrogen pada karbon dalam sistem siklik 5 atom dengan tersubstitusi 2 nitrogen, hal ini ditunjukkan dengan NOE (B) terhadap gugus CH_2 rantai R dan CH_3 pada metil dari ion nitrogen. Dua proton pada posisi (A) di senyawa (2) ini merupakan hidrogen dari atom nitrogen, yang geser kimianya akan meluruh seiring waktu karena tersubstitusi perlahan oleh atom deuterium dari pelarut non hidrogenasi yang digunakan (MeOD). Hal inilah yang menyebabkan perbandingan antara proton (A) dan (B) pada senyawa (2) tidak tepat 2:1, karena sebagian proton A sudah tersubstitusi. Sedangkan senyawa (3), spektra



Gambar 6. Spektra Proton-NMR subfraksi (1) fraksi polar *Petrosia sp.* pada area 6,4–9,4 ppm beserta dengan intergrasi dan kelompok proton dari masing-masing komponen terbanyak (senyawa 1, 2, dan 3).

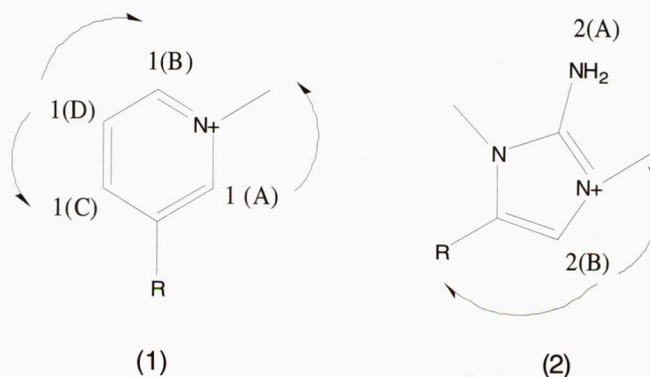
Figure 6. Proton-NMR spectra of subfraction (1) of polar fraction *Petrosia sp.* at 6.4–9.4 ppm with the proton integration and group of protons from each major compounds (compound 1, 2, and 3).

menunjukkan bahwa senyawa ini merupakan rantai konjugasi yang tersubstitusi oleh suatu rantai karbon. Namun, oleh karena rantai karbon pada spektra proton berada pada geser kimia di bawah 4 ppm, maka determinasi struktur senyawa (3) harus melalui prosedur pemurnian lebih lanjut. Berdasarkan hasil interpretasi ini, maka gugus siklik dari senyawa (1) dan (2) dapat diperkirakan seperti yang terlihat pada Gambar 7.

Determinasi ciri-ciri senyawa yang memiliki berat molekul yang tidak terlalu besar, serta mempunyai sistem siklik ternitrogenasi dan gugus karbonil terhadap pustaka digital MarinLit (2007) menunjukkan bahwa kemungkinan besar kedua senyawa di atas merupakan golongan senyawa *betaines*, yaitu trigonelin dan aminozoanemonin. Umumnya, senyawa-senyawa derivat alkaloid ion piridinium ini tergolong kepada metabolit primer karena fungsinya,

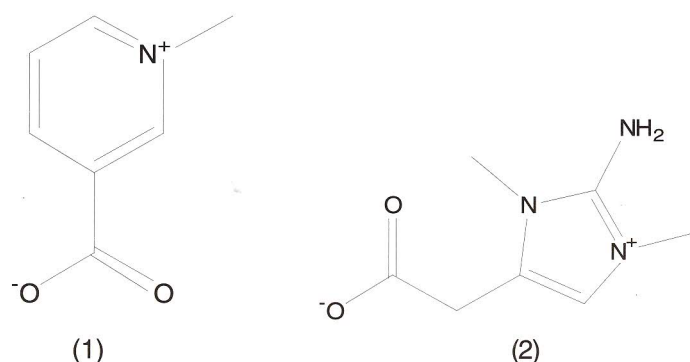
yaitu sebagai regulator osmosis, karena berperan penting bagi kehidupan biota laut penghasilnya. Gambar 8 memperlihatkan struktur senyawa-senyawa tersebut.

Menurut Oke & Hamburger (2002), radikal bebas DPPH dapat dinetralisasi dengan pembentukan kompleksnya bersama elektron sunyi yang terdapat pada suatu senyawa aktif melalui mekanisme transfer donor proton. Oleh karena itu, dapat diperkirakan bahwa pusat bioaktivitas yang terdapat pada subfraksi aktif berasal dari hasil efek sinergis antara senyawa (1) dan (2) yang memiliki elektron sunyi pada gugus fungsional ionik nitrogen dan oksigen sehingga mampu menetralkan radikal DPPH dan menjadikannya sebagai senyawa DPPH non radikal. Hal inilah yang menyebabkan subfraksi ini bereaksi positif terhadap uji bioaktivitas reagen DPPH. Sedangkan untuk senyawa (3), diperkirakan tidak



Gambar 7. Gugus siklik senyawa (1) dan (2) dengan garis anak panah sebagai hasil observasi selektif NOE.

Figure 7. Cyclic groups of compound (1) and (2) with arrow line as the observed selective NOE.



Gambar 8. Struktur senyawa (1) Trigonelin dan (2) Aminozyanomonin.
 Figure 8. Structure of (1) Trigoneline and (2) Aminozyanomonin.

memberikan efek sinergis karena berdasarkan data yang dimiliki senyawa ini berupa gugus konjugasi yang tersubstitusi rantai karbon dan tidak terindikasi memiliki gugus-gugus yang dapat menjadi suatu donor proton.

Selain mampu menetralkan radikal bebas, studi pustaka menunjukkan bahwa senyawa-senyawa *betaines* diketahui memiliki bioaktivitas yang baik. Aktivitas antitumor sebagai antiproliferasi yang baik dari *betaines* telah ditemukan oleh Aiello *et al.* (2000). Selain itu, Temraz *et al.* (2006) menemukan bahwa derivat dari senyawa ini memiliki bioaktivitas peningkatan efek elektropsikologi neuron, sehingga prospektif untuk digunakan di bidang farmasi. Lebih lanjut, Cafieri *et al.* (1998) juga menemukan bahwa aminozyanomonin yang berasal dari spons *Agelas dispar* memiliki bioaktivitas antibakteri yang baik, sedangkan Hattori *et al.* (2001) menemukan bioaktivitas antifouling pada salah satu derivat alkaloid piridinium ini.

Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan reagen DPPH sebagai pemandu bioasai untuk menemukan senyawa aktif pada spons telah berhasil dengan baik. Walaupun belum menunjukkan korelasi yang terbukti valid pada kasus bioaktivitas senyawa-senyawa lainnya, namun pada riset ini, DPPH memiliki potensi untuk dapat digunakan sebagai alternatif pemandu bioasai pada proses fraksinasi yang lebih cepat dan lebih terjangkau dibandingkan dengan penggunaan reagen-reagen bioasai sitotoksik lain yang lebih mahal dan memerlukan waktu analisis biologis yang lebih lama. Akan tetapi, secara statistik korelasi penggunaan beberapa jenis reagen pemandu untuk purifikasi bahan alam dari spons sebagai produk farmasi dapat menjadi topik pada penelitian selanjutnya.

Kadar senyawa regulator osmosis yang cukup tinggi pada *Petrosia* sp. yang diuji dapat menunjukkan bahwa kondisi biota laut ini kurang sehat atau sedang

dalam proses untuk beradaptasi terhadap lingkungannya yang tidak cukup ideal baginya. Menggunakan pendekatan analisis *NMR-metabolomics* terhadap biota laut yang sehat dan yang sakit, Viant *et al.* (2003) menemukan bahwa pada biota laut tidak sehat, peningkatan metabolisme senyawa *betaines* dilakukan untuk menyeimbangkan kehilangan asam amino yang teroksidasi dari media intraselular. Selain itu, menurut fungsinya, kenaikan kadar senyawa regulasi ini juga berarti bahwa proses osmosis sel biota membutuhkan jumlah *betaines* yang lebih tinggi karena pengaruh lingkungan yang kurang baik. Kedua hal ini dapat memberikan hipotesis yang baik pada penelitian ekologi selanjutnya. Kemungkinan pertama adalah cuplikan sampel yang dianalisis pada penelitian ini merupakan biota laut yang tidak sehat dan terambil secara acak pada proses pengambilan sampel. Kemungkinan kedua adalah faktor kualitas lingkungan Kepulauan Seribu yang kurang baik, sehingga biota-biota laut yang berada di habitat ini secara perlahan melakukan proses adaptasi kimiawi untuk menjaga kelangsungan hidupnya. Hal ini dapat dilakukan pada penelitian lanjutan yang mengambil beberapa sampel biota laut kemudian membandingkan interaksi kimia-ekologis antara sampel-sampel tersebut menggunakan metode pendekatan *NMR-metabolomics*, seperti yang telah dilakukan oleh Viant *et al.* (2003).

KESIMPULAN

Analisis dereplikasi menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terdapat pada fraksi polar *Petrosia* sp. merupakan senyawa trigonelin dan aminozyanomonin yang umum terdapat pada biota laut. Panduan bioasai menggunakan reagen DPPH berhasil dengan baik untuk proses fraksinasi dereplikasi, sehingga dapat dijadikan alternatif yang lebih terjangkau untuk menemukan senyawa aktif pada biota spons. Selain itu, juga ditemukan bahwa

tingkat kandungan golongan *betaines* yang tinggi dapat mengindikasikan suatu kemungkinan terjadinya tingkat tekanan lingkungan yang tinggi pada spons. Oleh karena itu, interaksi ekologis lingkungan Kepulauan Seribu dengan metabolit yang dihasilkan oleh biota-biota di wilayah perairan ini menjadi topik yang sangat menarik untuk dipelajari lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada staf Taman Nasional Kepulauan Seribu untuk pengambilan sampel menggunakan SCUBA *diving*, kolega Fakultas Farmasi Universitas Pancasila: Prih Sarnianto, M.Sc atas panduannya pada pelaksanaan kromatografi, serta kolega laboratorium kimia dan BAF1 dari *Australian Institute of Marine Science* (AIMS): Anthony D. Wright, Dianne Tapiolas, Cherie Motti, Jonathon Nielson, dan Marnie Frackelton, atas sarana instrumentasi NMR dan juga bantuannya dalam interpretasi data hasil.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiello, A., Fattorusso, E., Menna, M. and Luvone, T., 2000. Sulcation, a novel antiproliferative n-methylpyridinium alkaloid from the ascidian *Microcosmus vulgaris*. *J. Nat. Prod.* 63, 517–519.
- Blunt, J.W. and Blunt, D.A. 2007. *MarinLit-Marine Literature Database*. Version # vpc13.5. Revised by Munro, M.H.G. and Blunt, J.W. Maintained at various time by Hickford, S.J.H., Vigneswaran, M., Celestine, Unger, R.E., Hu, S. Marine Chemistry Group, Department of Chemistry-University of Caterbury. Christchurch, New Zealand.
- Cafieri, F., Fattorusso, E. and Tagliatela-Scafati, O., 1998. Novel betaines from the marine sponge *Agelas dispar*. *J. Nat. Prod.* 91: 1171–1173.
- Chow, S.T., Chao, W.W. and Chung, Y.C. 2003. Antioxidative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolus raditus* L. Var Aurea). *J. Food science.* 68(1): 21–25.
- Hattori, T., Matsuo S., Adachi, K. and Ahizuri, Y. 2001. Isolation of antifouling substances from the palauan sponge *Protophlitaspongia aga*. *Fisheries Science* 67: 690–693.
- Oke, J.M. and Hamburger, M.O. 2002. Screening of some nigerian medical plants for antioxidant activity using DPPH radical. *African Journal of Biomedical Research.* 5: 77–79.
- Quinn, R.J. 2007. Strategies to isolate drug-like marine natural products. *Proceeding Paper at 12th International Symposium on Marine Natural Products*. Queenstown, New Zealand Fef. p. 4–9.
- Temraz, T.A., Houssen, W.E., Jaspars, M., Woolley, D.R., Wease, K.N., Davies, S.N. and Scott, R.H. 2006. A pyridinium derivative from red sea soft corals inhibited voltage activated potassium conductances and increased excitability of rat cultured sensory neurones. *BMC Pharmacology.* 6:10. doi:10.1186/1471-2210-6-10.
- Viant, M.R., Rosenblum, E.S. and Tjeerdema, R.S. 2003. NMR-based metabolomics: a powerful approach for characterizing the effects of environmental stressors on organism health. *Environ. Sci. Technol.* 37: 4982–4989.
- Wikanta, T., Sugiyono, Suryaningrum, Th.D., Januar, H.I., Nursid, M., Fajarningsih, N.D., Munifah, I. and Krisnawang, H. 2005. Extraction of bioactive compounds from sea organisms. *Technical Report at Research Center of Marine and Fisheries Products Processing and Socio-Economic.*