

KOMUNIKASI RINGKAS

ISOLASI SENYAWA SITOTOKSIK DARI SPONS LAUT *Petrosia* sp.

*Isolation of Cytotoxic Compounds from Marine Sponge *Petrosia* sp.*

Dian Handayani^{1*}, Mega Yulia¹, Yohanes Allen¹ dan Nicole J. de. Voogd²

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

² Naturalis, National Museum of Natural History, Leiden, Netherlands

* Korespondensi Penulis: Dian Handayani, Kampus UNAND, Limau Manis, Padang Sumatera Barat, Padang 25163.
E-mail: dianh_17@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian tentang kandungan senyawa kimia spon laut *Petrosia* sp. yang berasal dari Sumatera Barat telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas sitotoksik senyawa kimia tersebut. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metoda kromatografi kolom dan rekristalisasi. Uji aktivitas sitotoksik senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan metoda "*Brine Shrimp Lethality Test*". Penelitian ini menghasilkan satu senyawa golongan triterpenoid dengan nilai LC₅₀ 124,99 ppm.

KATA KUNCI: *Petrosia* sp., aktivitas sitotoksik, *Brine Shrimp Lethality Test*, spon laut, dan isolasi

ABSTRACT

Chemical investigation on marine sponge *Petrosia* sp. collected from West Sumatera, Indonesia has been performed. This study was aimed to isolate and test their cytotoxic activity. Isolation procedure was performed by using column chromatography method and recrystallization. Cytotoxic activity of the isolate compound was tested by using "*Brine Shrimp Lethality Test*" method. This study yielded one triterpenoid compound, which showed LC₅₀ of 124.99 ppm.

KEYWORDS: *Petrosia* sp., cytotoxic activity, *Brine Shrimp Lethality Test*, marine sponge and isolation

PENDAHULUAN

Lautan Indonesia adalah bagian wilayah Indopasifik yang merupakan salah satu pusat keanekaragaman biota laut terbesar di dunia. Biota laut (*marine organism*) merupakan sumber bahan alam yang sangat kaya dengan aktivitas biologi yang unik. Salah satu contoh biota laut adalah spon. Jumlah dan penyebaran spon di seluruh dunia sangat banyak. Sekitar 7000 jenis spon telah dipublikasikan, tetapi berdasarkan perkiraan 15.000 spesies hidup di perairan laut dan danau (Sumaryono *et al.*, 2005).

Spon mudah dikoleksi dan memiliki kandungan metabolit sekunder dengan bioaktivitas menarik, seperti antibakteri yang berhasil diisolasi dari *Angelas clathrodes* (Setyowati *et al.*, 2005), antioksidan dari *Callyspongia* sp. (Hanani *et al.*, 2005), antifungi dari *Stylissa flabelliformis* dan *Haliclona* sp. (Setyowati *et al.*, 2007), antiinflamasi dari *Axinella brevistyla*

(Yalcin, 2007), dan aktivitas sitotoksik dari *Spongia* sp. dan *Petrosia* sp. (Mayer & Gustafson, 2008).

Berdasarkan potensi bioaktivitas dari spon laut tersebut maka dilakukan survei di Perairan Mandeh Painan, Kabupaten Pesisir Selatan, Sumatera Barat dan sampel diambil pada kedalaman ± 15 meter dibawah permukaan laut. Berdasarkan hasil skrining sitotoksik dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap 10 jenis spon yang dikoleksi, maka sampel MN 04 menunjukkan aktivitas sitotoksik yang paling aktif dengan LC₅₀ = 41,44 ppm dibanding spon lainnya. Hasil identifikasi sampel yang dilakukan oleh Nicole J. de. Voogd dari museum zoologi Amsterdam Belanda menyatakan spon tersebut merupakan salah satu spesies dari genus *Petrosia* yaitu *Petrosia* sp. (Yulia & Handayani, 2009). Berdasarkan hasil skrining tersebut maka dilakukan penelitian lanjutan terhadap spon *Petrosia* sp.

Dari studi literatur, diketahui bahwa senyawa yang telah berhasil diisolasi dari genus *Petrosia* di antaranya Petrosin-A dan -B, dua Alkaloid bis-Kuinolizidin baru dari spon *Petrosia seriata* (Braekman *et al.*, 1984), alkaloid manzamin A aktif sitotoksik dan dideoxypetrosynol A yang aktif sebagai antitumor pada sel melanoma manusia (Kim *et al.*, 1998), *Petrocortynes A-C*, *Petrosiacetylenes A-C* aktif sitotoksik (Seo *et al.*, 1998), serta Manzamin A, dan 8-OH Manzamin A dari *Petrosia* sp. yang dikoleksi dari perairan pantai Bunaken-Manado aktif menghambat proliferasi beberapa sel kanker manusia secara *in vitro* (Gemini *et al.*, 2005). Selain itu terdapat Neopetroformyne A, B, C, D (Ueoka *et al.*, 2009), dan 5,8-epidioksi-24-etilkolest-6-en-3-ol (steroid) dari spon laut *Petrosia nigrans* yang aktif sebagai antibakteri (Handayani *et al.*, 2011). Berdasarkan penjelasan di atas diharapkan ditemukannya suatu senyawa dari *Petrosia* sp. ex. perairan Mandeh yang memiliki aktivitas sitotoksik.

Potensi sitotoksik yang dimiliki oleh *Petrosia* sp. diharapkan dapat digunakan sebagai sumber senyawa antitumor atau antikanker baru, mengingat kanker masih merupakan penyakit penyebab kematian utama di dunia (Astuti *et al.*, 2005). Kebutuhan obat kanker semakin lama semakin meningkat karena obat-obatan yang dipakai selama ini disamping harganya mahal, selektivitasnya rendah karena adanya mekanisme *multidrug resistance* (MDR) yang mengakibatkan berkurangnya efikasi obat kemoterapi (Setyowati *et al.*, 2005). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan isolasi senyawa aktif sitotoksik dan pengujian sitotoksik senyawa hasil isolasi dengan metoda BSLT dari spon laut *Petrosia* sp.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk pengerjaan isolasi adalah *rotary evaporator*, corong pisah (kapasitas 1 L), kolom kromatografi, desikator, lampu UV₂₅₄, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu, spektrometer IR Bioard/Digilab FTS-45, *melting point apparatus*, chamber. Sedangkan alat untuk uji aktivitas metode BSLT adalah wadah pembiakan larva, aerasi (pembentuk gelembung udara), timbangan analitik, pipet mikro, pipet tetes, dan vial.

Bahan yang digunakan untuk isolasi adalah sampel spon laut *Petrosia* sp., air suling, silika gel 60 dan 300, plat silika GF₂₅₄, pereaksi Liebermann-Burchard, metanol, pereaksi vanilin sulfat, *n*-heksana, diklorometana dan kapas, sedangkan bahan yang

digunakan dalam pengujian BSLT: air laut, sampel uji, dan dimetil sulfoksida (DMSO).

Pengambilan Sampel

Sampel diambil di perairan Mandeh, Kecamatan Koto XI Tarusan Kanagarian Ampang Pulai, Kabupaten Pesisir Selatan pada kedalaman ± 15 m, Sumatera Barat. Spon laut *Petrosia* sp. yang terkumpul segera dimasukkan kedalam botol dan direndam dalam metanol.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Spon laut *Petrosia* sp. sebanyak 2 kg dipotong halus kemudian dimaserasi dengan metanol sebanyak ± 3 x 3 L dalam botol berwarna gelap dan disimpan ditempat gelap selama 5 hari dan sesekali dikocok. Sampel yang dimaserasi tersebut kemudian disaring dengan kapas. Maserat metanol dari beberapa kali perendaman tersebut digabung dan dipekatkan *in vacuo* sampai kental hingga didapat ekstrak kental (45,33 gram). Ekstrak kental metanol ditambahkan air suling sebanyak 200 mL.

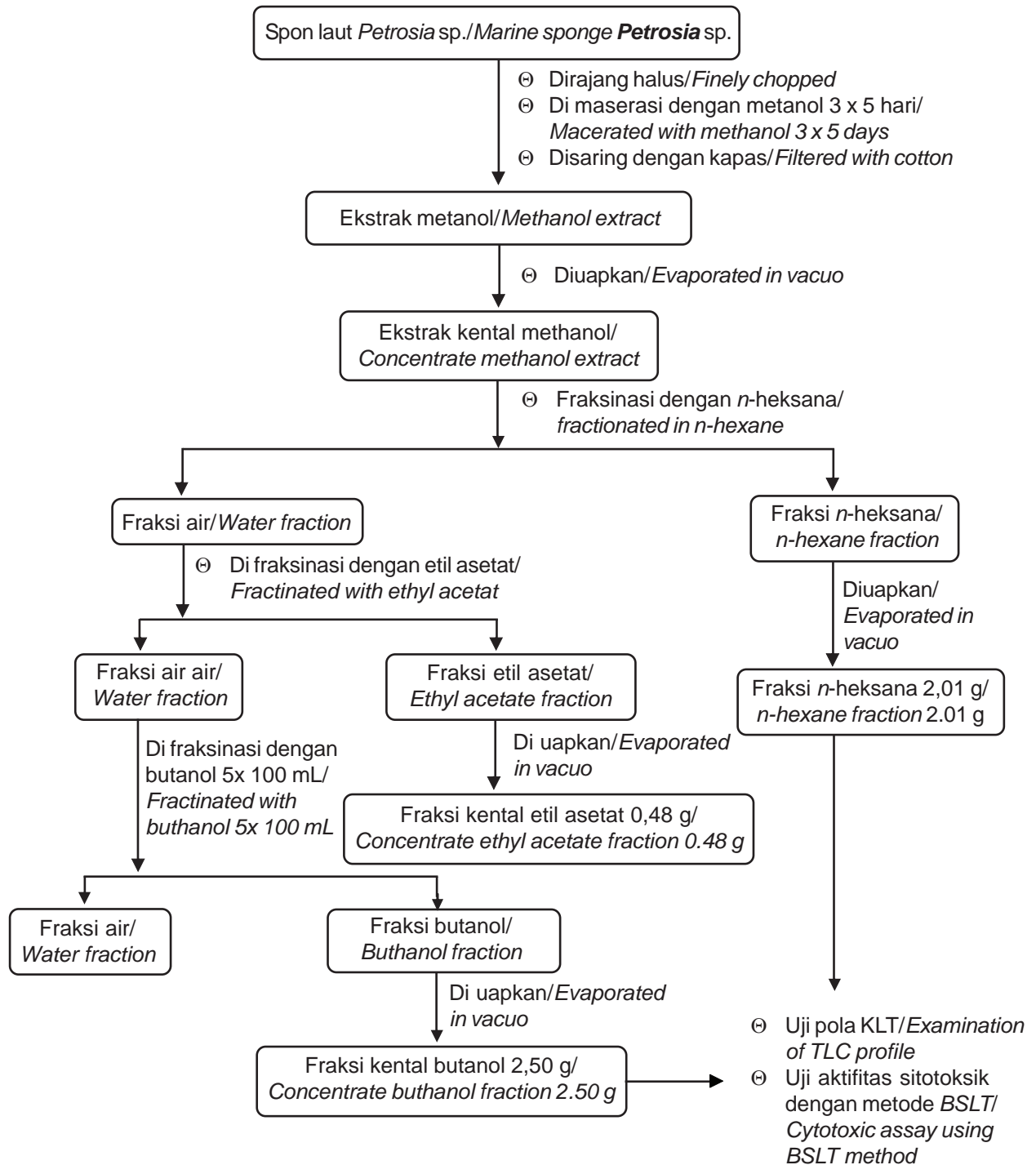
Fraksinasi dilakukan dengan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan dilakukan di dalam corong pisah. Fraksinasi diawali dengan pelarut non polar *n*-heksana sebanyak 6 x 100 mL, dikocok lalu dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yang terdiri dari fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Hasil fraksi heksana diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kentalnya. Fraksi air lalu difraksinasi dengan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar sebanyak 5 x 100 mL, sehingga diperoleh dua fraksi yaitu fraksi etil asetat dan fraksi air. Kemudian fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental etil asetat.

Fraksi air selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan butanol sebanyak 5 x 100 mL sehingga diperoleh dua fraksi yaitu fraksi butanol dan fraksi air sisa. Kemudian fraksi butanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental butanol (Gambar 1).

Pengujian Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi (Meyer, 1982)

Pengujian pendahuluan aktivitas ekstrak dilakukan sebagai berikut: ekstrak kental ditimbang sebanyak 30 mg, kemudian dilarutkan dalam 3 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai larutan induk. Pengujian aktivitas dilakukan dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 1000, 100, 10 ppm, dan setiap konsentrasi dibuat 3 ulangan.

Larutan uji dibuat dengan memipet masing-masing 500, 50, dan 5 µL dari larutan induk, setelah itu larutan



Gambar 1. Diagram alir ekstraksi dan fraksinasi spon laut *Petrosia* sp.
 Figure 1. Extraction and fractionations flow chart of marine sponge *Petrosia* sp.

uji dimasukkan dalam desikator sampai semua pelarutnya menguap dan sebagai kontrol disiapkan 3 vial yang hanya diisi 50 µL DMSO dan ditepatkan volumenya hingga 5 mL dengan air laut. Ekstrak yang sudah kering dari masing-masing vial dilarutkan

50 µL DMSO, kemudian ditambahkan air laut ± 2 mL. Sebanyak 10 larva udang dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi ekstrak, DMSO dan air laut, kemudian volume ditepatkan hingga 5 mL dengan air laut. Jumlah larva yang hidup dihitung setelah 24 jam,

Nilai LC₅₀ dihitung menurut metoda Farmakope Indonesia.

Pengujian Aktivitas Sitotoksik Senyawa Hasil Isolasi

Pengujian aktivitas dilakukan dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 ppm, dengan 3 kali ulangan. Isolat ditimbang sebanyak 10 dan 5 mg. Sebanyak 10 mg isolat dilarutkan dalam 200 µL DMSO (larutan induk 50.000 ppm). Larutan induk dipipet 3 x masing-masing 50 µL, masukan dalam vial yang berbeda. Kemudian pada masing-masing vial dicukupkan dengan 5 mL air laut (kosentrasi larutan 500 ppm). Sisa larutan induk 50 µL diencerkan dengan menambah 150 µL DMSO, homogenkan. Pipet larutan tersebut 3 x masing-masing 50 µL, masukan dalam vial yang berbeda. Kemudian volume masing-masing vial ditepatkan hingga 5 mL dengan air laut (kosentrasi larutan 125 ppm). Sisa 50 µL larutan diencerkan dengan menambah 150 µL DMSO, lalu homogenkan. Pipet larutan 3 x masing-masing 50 µL dan masukan dalam vial yang berbeda. Kemudian volume masing-masing vial ditepatkan hingga 5 mL air laut (konsentrasi larutan 31,25 ppm).

Sebanyak 5 mg isolat dilarutkan dalam 200 µL DMSO (larutan induk 25.000 ppm). Larutan induk dipipet 3 x masing-masing 50 µL, di masukan dalam vial yang berbeda. Kemudian volume masing-masing vial ditepatkan hingga 5 mL air laut (konsentrasi larutan 250 ppm). Sisa larutan induk 50 µL diencerkan dengan menambah 150 µL DMSO dan di homogenkan. Pipet larutan tersebut 3 x masing-masing 50 µL dan di masukan dalam vial yang berbeda. Kemudian volume masing-masing vial ditepatkan hingga 5 mL air laut (konsentrasi larutan 62,5 ppm). Isolat yang sudah kering dari masing-masing vial dilarutkan dengan 50 µL DMSO, kemudian ditambahkan air laut ± 2 mL. Sebanyak 10 larva udang dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi ekstrak,

DMSO dan air laut, volume ditepatkan hingga 5 mL dengan air laut. Jumlah larva yang hidup dihitung setelah 24 jam. Nilai LC₅₀ dihitung menurut metode Farmakope Indonesia, 1995.

HASIL DAN BAHASAN

Dari 2 kg sampel basah spon laut *Petrosia* sp. diperoleh ekstrak kental metanol 45,33 gram (2,27%), setelah difraksinasi berdasarkan tingkat polaritas yang berbeda diperoleh fraksi heksana, etil asetat dan butanol. Metoda pengujian aktivitas digunakan dalam penelitian ini adalah metode BSLT. BSLT merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat aktif. Metoda ini pertama kali dilakukan oleh Meyer (1982). Pengujian dengan cara ini mempunyai keuntungan yaitu murah, mudah, cepat pengerjaannya, dapat dipercaya dan tidak memerlukan kondisi aseptis (Meyer, 1982). Uji larva udang ini juga dapat digunakan untuk skrining awal senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antitumor. Dilaporkan uji ini mempunyai korelasi yang positif dengan potensinya sebagai antitumor (Fajarningsih *et al.*, 2008).

Fraksi heksana, etil asetat dan butanol diuji aktivitas sitotoksik dengan metoda BSLT, pengujian ini bertujuan untuk mengetahui fraksi mana yang paling aktif sitotoksik, dengan kata lain yang menunjukkan LC₅₀ yang kecil. Ekstrak atau fraksi dikatakan aktif bila LC₅₀ < 1000 ppm, sedangkan untuk senyawa murni < 200 ppm (Meyer, 1982). Konsentrasi untuk pengujian masing-masing fraksi disamakan dengan pengujian pada ekstrak metanol, dimana ketiga fraksi menunjukkan aktivitas sitotoksik (Tabel 1).

Fraksi heksana, etil asetat dan butanol menunjukkan aktivitas sitotoksik, sehingga isolasi dilakukan pada fraksi yang paling aktif sitotoksiknya yaitu fraksi heksana. Hasil monitor dengan plat KLT terhadap fraksi heksana menunjukkan pola penyebaran

Tabel 1. Hasil pemeriksaan BSLT fraksi heksana, etil asetat dan butanol dari spon laut *Petrosia* sp.
 Table 1. BSLT results of hexane, ethylacetat and buthanol's fractions from marine sponge *Petrosia* sp.

Fraksi/Fractions	Jumlah (Rendemen/Yield)	LC ₅₀ (ppm)
Heksan	2.01 gram (0.1%)	25.77
Etil asetat	0.48 gram (0.02 %)	33.14
Butanol	2.50 gram (0.125 %)	77.8

senyawa yang baik dengan menggunakan fasa gerak *n*-heksana : etil asetat (4:1) dan penampak noda lampu UV₂₅₄. Sebanyak 2,01 g fraksi heksana yang dilarutkan dengan pelarut yang sama untuk pembuatan suspensi silika dimasukan secara hati-hati dengan pipet tetes agar tidak merusak permukaan atas suspensi silika. Pengelusi yang digunakan adalah *n*-heksana : etil asetat (4:1, 4:2, 1:1, 1:4, 1:9) dan terakhir dengan etil asetat 100%. Fraksi yang keluar ditampung ± 10 mL dalam vial 20 mL sebanyak 155 buah fraksi. Eluat tersebut dimonitor dengan plat KLT dengan penampak noda lampu UV₂₅₄. Noda yang sama digabung (Adnan, 1997), sehingga diperoleh 5 sub-fraksi gabungan yaitu MY-05-14-1 (1-7), MY-05-14-2 (8-60), MY-05-14-3 (61-116), MY-05-14-4 (117-140) dan MY-05-14-5 (141-155).

Dari 5 sub-fraksi gabungan, MY-05-14-2 mempunyai kemungkinan untuk dilanjutkan isolasi, karena fraksi ini sudah memperlihatkan kristal berwarna putih kehijauan dan aktif sitotoksik. Untuk itu maka dilanjutkan isolasi dengan cara rekristalisasi untuk pemurniannya dengan beberapa pelarut campur seperti *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Dari fraksi MY-05-14-2 ini didapatkan kristal yang mempunyai satu noda di bawah lampu UV₂₅₄ sebanyak 11 mg. Namun setelah disemprot dengan MeOH/H₂SO₄ menunjukkan 5 noda dengan jarak pemisahan yang jauh. Noda yang paling besar berfluoresensi ungu dengan UV₂₅₄. Untuk memisahkan senyawa tersebut dilakukan KLT preparatif dengan plat silika dan dielusi dengan eluen *n*-heksana : etil asetat = 4:1, sesuai dengan eluen yang dipakai dari awal KLT. Noda yang berfluoresensi dibawah UV₂₅₄ dikerok dan dilarutkan dengan pelarut, kemudian dibiarkan menguap sehingga terbentuk kristal jarum halus. Profil KLT kristal jarum halus hasil KLT preparatif dielusi dengan eluen *n*-heksana : etil asetat = 4:1. Hasil KLT menunjukan satu noda dengan UV₂₅₄, namun setelah

disemprot kembali dengan MeOH/H₂SO₄ terlihat kembali ada 4 noda yang lain. Hal ini mungkin dikarenakan senyawa yang diisolasi bersifat tidak stabil atau mudah terurai. Isolasi senyawa ini tidak bisa dilanjutkan karena berat kristal yang masih 4 noda tersebut hanya 2,3 mg. Isolasi senyawa kemudian difokuskan pada fraksi etil asetat.

Terhadap fraksi etil asetat (0,48 gram) dilakukan kromatografi kolom. Hasil pemantauan penyebaran noda dengan metoda KLT fraksi etil asetat memperlihatkan pemisahan noda yang baik dengan menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (1:1). Oleh sebab itu dilakukan isolasi dengan menggunakan kromatografi kolom dengan metoda SGP (*Step Gradient Polarity*). Kromatografi kolom fraksi etil asetat (0,48 g) dilakukan dengan fasa diam silika gel 300 (45-75 µm) sebanyak 51,88 g. Pembuatan suspensi silika dengan menggunakan pelarut *n*-heksana 100%, kemudian dimasukan ke dalam kolom yang bagian bawahnya telah disumbat terlebih dahulu dengan kapas. Suspensi tersebut dimasukan ke dalam kolom sambil diketok-ketok agar silika memadat. Sampel dibuat menjadi serbuk preabsorpsi dengan menambahkan silika gel dua kali jumlah sampel ke dalam larutan sampel kemudian pelarutnya diuapkan secara *in vacuo* sehingga diperoleh campuran silika gel dan sampel berupa serbuk kering. Sampel ditaburkan merata diatas silika gel dan dielusi dengan komposisi eluen seperti yang terdapat pada Tabel 2.

Hasil elusi ditampung di dalam vial dengan volume + 8 mL. Hasil kromatografi kolom dimonitor dengan KLT pada UV₂₅₄ dan bercak diamati dengan pereaksi semprot vanilin asam sulfat. Bercak yang sama digabung dan didapatkan 9 sub-fraksi yaitu MY-05-18-1 (1-35), MY-05-18-2 (36-41), MY-05-18-3 (42-51), MY-05-18-4 (52-65), MY-05-18-5 (66-91), MY-05-18-6 (92-95), MY-05-18-7 (96-100), MY-05-18-8 (101-108) dan MY-05-18-9 (109-118). Dari 9 sub-fraksi gabungan

Tabel 2. Komposisi eluen kromatografi kolom fraksi etil asetat

Table 2. Elution composition of colum chromatography for ethyl acetate fraction

Eluen/Eluent	Perbandingan/ Composition	Volume (mL)
<i>n</i> -Heksan : Etil asetat/ <i>n</i> -Hexane : Ethyl acetate	8.5 : 1.5	200
<i>n</i> -Heksan : Etil asetat/ <i>n</i> -Hexane : Ethyl acetate	8.0 : 2.0	100
<i>n</i> -Heksan : Etil asetat/ <i>n</i> -Hexane : Ethyl acetate	7.0 : 3.0	100
<i>n</i> -Heksan : Etil asetat/ <i>n</i> -Hexane : Ethyl acetate	6.0 : 4.0	200
<i>n</i> -Heksan : Etil asetat/ <i>n</i> -Hexane : Ethyl acetate	5.0 : 5.0	100
Etil asetat/Ethyl acetate 100%		100

tersebut MY-05-18-2 yang memungkinkan untuk diisolasi karena jumlahnya banyak, telah menunjukkan kristal jarum putih kehijauan serta aktif sitotoksik. Senyawa yang diperoleh dari MY-05-18-2 (49 mg) selanjutnya dimurnikan dengan cara rekristalisasi. Rekristalisasi menggunakan dua pelarut, yaitu etil asetat dan metanol, sehingga didapatkan senyawa murni MY-05-19-1 dengan berat 21,5 mg (0,001075%) Rf = 0,36 dengan fasa gerak *n*-heksana : etil asetat 8 : 2, berupa kristal jarum putih dengan jarak leleh 137–139°C, yang larut dalam pelarut *n*-heksana dan etil asetat, tetapi sukar larut dalam metanol. Pemeriksaan kimia terhadap senyawa MY-05-19-1 memberikan hasil positif terhadap pereaksi spesifik golongan terpenoid seperti Liebermann burchard, vanilin asam sulfat dan H₂SO₄ 10%/MeOH. Hasil reaksi positif bila memberikan warna merah muda, hasil pemeriksaan menunjukan senyawa tersebut termasuk golongan triterpenoid.

Dari data spektrum IR didapatkan senyawa MY-05-19-1 memperlihatkan serapan pada bilangan gelombang 3436 cm⁻¹ yang diduga berasal dari regang gugus -OH, serapan pada 2937 cm⁻¹ diduga berasal dari regang gugus C-H, serapan 1638 cm⁻¹ berasal dari regang C=C, 1460 cm⁻¹ diduga berasal dari vibrasi tekuk gugus C-H, 1033 cm⁻¹ diduga berasal dari vibrasi tekuk C-O 3436 cm⁻¹, 2937 cm⁻¹, 1638 cm⁻¹, 1460 cm⁻¹ dan 1033 cm⁻¹ (Gambar 2) (Silverstein *et al.*, 1991).

Penentuan LC₅₀ senyawa hasil isolasi dilakukan dengan metoda Farmakope Indonesia yang didapatkan nilai LC₅₀ senyawa MY-05-19-1 adalah 124,99 ppm (Tabel 3), artinya pada konsentrasi 124,99 ppm senyawa MY-05-19-1 telah dapat membunuh setengah dari populasi hewan uji.

Nilai LC₅₀ senyawa MY-05-19-1 yang didapat lebih besar dari nilai LC₅₀ fraksi etil asetat (33,14 ppm) dan

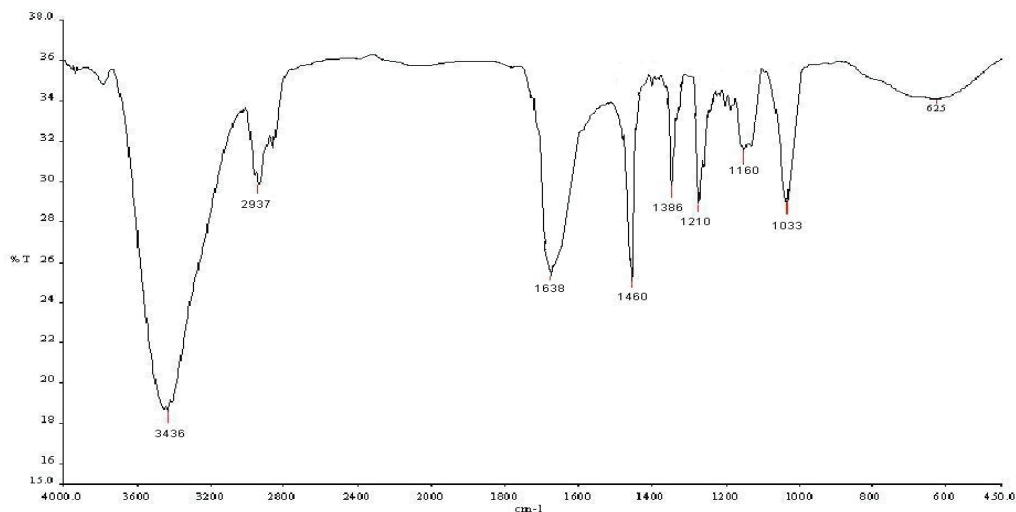
ekstrak metanol (41,44 ppm). Hal ini mungkin disebabkan aktivitas sitotoksik senyawa gabungan lebih kuat dari aktivitas satu senyawa saja. Karena berdasarkan hasil pemeriksaan kandungan kimia utama ekstrak metanol *Petrosia* sp. mengandung senyawa fenolik, terpenoid dan steroid. Hasil studi literatur menunjukkan bahwa senyawa fenolik bersifat antiseptik yang telah menjadi komponen utama pada antiseptik dagang yang dikenal dengan *trichlorophenol*, sehingga diduga aktivitas ekstrak lebih besar karena dalam ekstrak mengandung senyawa fenolik (Gump & Walter, 1963). Namun senyawa ini tidak berhasil diisolasi. Diduga senyawa fenolik tidak ikut terfraksinasi dalam fraksi heksana dan etil asetat, namun masuk ke fraksi butanol dan sisa yang tidak dijadikan sebagai objek penelitian.

Nilai LC₅₀ senyawa MY-05-19-1 sebesar 124,99 ppm termasuk ke dalam senyawa aktif sitotoksik. Suatu isolat dikatakan aktif sitotoksik bila nilai LC₅₀ < 200 ppm. Dengan penelitian lebih lanjut, senyawa sitotoksik ini bisa dikembangkan menjadi sitotoksik agen, yang nantinya dapat diarahkan menjadi senyawa antibakteri, antijamur, germisida, antikanker, dan sebagainya. Untuk senyawa triterpenoid yang aktif sitotoksik telah banyak ditemukan dari bahan alam seperti Hemiasterlins dari spon *Auletta* sp. dan *Siphonochalina* sp., Isomalabaricane dari *Stelletta* sp., Stelletin dari *Rhabdastrella globostellata* (Carter), dan Geodine dari *Geodia japonica* (Mayer & Gustafson, 2008).

Dari studi literatur, diketahui bahwa senyawa yang telah berhasil diisolasi dari genus *Petrosia* diantaranya Petrosamine dan 2-Bromoamphimidine (Nukoolkarn, *et al.*, 2008), senyawa polyasetilen seperti Neopetroformyne A, B, C, D (Ueoka, *et al.*, 2009), Petrocortynes A-C, Petrosiacetylenes A-C (Seo, *et al.*, 1998), dideoxypetrosynol A-D (Kim, *et al.*, 1998),

Tabel 3. Hasil BSLT senyawa MY-05-19-1
Table 3. BSLT result of MY-05-19-1 compound

Konsentrasi/ Concentration (ppm)	Jumlah Larva tiap Kelompok/Number of Brine Shrimp per Group	Larva yang Mati/ Death Brine Shrimp				Larva yang Hidup/ Live Brine Shrimp				Kontrol/ Control	Pi
		Vial			Rata-rata/ Average	Vial			Rata-rata/ Average		
		1	2	3		1	2	3			
500	10	10	10	10	10	0	0	0	0	10	1
250	10	9	9	8	9	1	1	2	1	10	0.9
125	10	5	7	7	6	5	3	3	4	10	0.6
61.5	10	0	0	0	0	10	10	10	10	10	0
31.25	10	0	0	0	0	10	10	10	10	10	0



Gambar 2. Spektrum Inframerah senyawa MY-05-19-1.
Figure 2. Infra Red's spectra of MY-05-19-1 compound.

Petrosterol dan 23,24-dihidrocalysterol (Gauvin, *et al.*, 1998), 5,8-epidioksi-24-etilkolest-6-en-3-ol (Handayani *et al.*, 2011), Aztequynol A (Guerriero, *et al.*, 1998), Dihalenoquinolides A dan B (Shen, *et al.*, 2004).

Bioaktivitas dari senyawa tersebut telah diketahui diantaranya 5,8-epidioksi-24-etilkolest-6-en-3-ol (steroid) aktif sebagai antibakteri, Alkaloid manzamine A aktif sitotoksik, dideoxypetrosynol A aktif sebagai antitumor pada sel melanoma kulit manusia. Khusus untuk senyawa triterpenoid yang berhasil diisolasi dari genus *Petrosia* dan aktif sitotoksik belum ditemukan. Berdasarkan literatur yang ada belum ditemukan senyawa dengan karakter spektrum IR mirip dengan MY-05-19-1. Identifikasi struktur senyawa MY-05-19-1 tidak dapat dilanjutkan karena keterbatasan data yaitu hanya ada data spektrum IR. Untuk dapat mengidentifikasi lebih lanjut diperlukan pengukuran ^{13}C dan ^1H RMI.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap spon *Petrosia* sp. didapatkan senyawa murni dari fraksi etil asetat yaitu MY-05-19-1, golongan triterpenoid, berupa kristal jarum putih sebanyak 21,5 mg. Jarak leleh senyawa tersebut 137–139°C dan LC_{50} dengan metode BSLT sebesar 124,99 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, P., Alam, G., Hartati, M.S., Sari, D., dan Wahyono, S. 2005. Uji sitotoksik senyawa alkaloid dari spons *Petrosia* sp.: Potensial pengembangan sebagai antikanker. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16(1): 58–62.
- Braekman, J.C., Daloz, D., Defay, N., and Zimmermann, D. 1984. Petrosin-A and -B, two new bis-quinolizidine alkaloids from the sponge *Petrosia Seriata*, *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*. 93(11): 941–944.
- Fajarningsih, D.N., Januar, H.I., Wikanta, T., dan Nursid, M. 2008. Correlation between brine shrimp lethality test and cytotoxicity assay in marine natural products screening. *Proceeding: International seminar and workshop Marine Biodiversity and their potential for developing bio-pharmaceutical industry in Indonesia*, Jakarta.
- Farmakope Indonesia. 1995. Edisi IV, Departemen Kesehatan, BPOM, Jakarta.
- Gauvin, A., Smadja, J., Aknin, M., and Gaydou, E.M. 1998. Cyclopropane-containing sterols in the marine sponge *Petrosia spheroida*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 121: 451–456.
- Gemini A., Astuti, P., Wahyono, S., Sari, D., and Hamman, M.T. 2005. Structure elucidation of bioactive compounds isolated from sponge *Petrosia* sp. collected from Bunaken Bay Manado. *Indonesian Journal of Chemistry*. 5(2).
- Guerriero, A., Debitus, C., Laurent, D., D'Ambrosio, M., and Pietra, F. 1998. Aztequynol A the first clearly defined, C-branched Polyacetylene and the analogue Aztequynol B. Isolation from the topical marine sponge *Petrosia* sp. *Tetrahedron Letters*. 39: 6395–6398.
- Gump, W.S. and Walter, G.R. 1963. Chemical structure and antimicrobial activity of bis-phenols. III. Broad spectrum evaluation of Hexachlorophene and its isomers. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*. 14(6): 269–276.
- Hanani, E., Mun'in, A., dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 11(3): 127–133.

- Handayani, D., Sayuti, N., Dachriyanus, dan Van Soest, R.W.M. 2011. Epioksi sterol, senyawa antibakteri dari spon laut *Petrosia nigrans*. *Jurnal Bahan Alam*. 07(06): 289–293.
- Kim, J.S., Im., K.S., Jung., J.H., Kim., Y-L., J. Kim., Shim, C.J., and Lee, C.O. 1998. New bioactive polyacetylenes from the marine sponge *Petrosia* sp. *Tetrahedron*. 54: 3151–3158.
- Mayer, A.M.S. and Gustafson, K.R. 2008. Marine pharmacology in 2005-2006: Antitumour and cytotoxic compounds. *ScienceDirect*. 44: 2357–2387.
- Meyer, B.N. 1982. Brine svhrimp: a conventional general bioassay for active plants constituents. *Plant Medica*. 45: 31–34.
- Nukoolkarn, V.S., Saen-oon, S., Rungrotmongkol, T., Hannongbua, S., Ingkaninan, K., and Suwanborirux, K. 2008. Petrosamine a potent anticholinesterase pyridoacridine alkaloid from a thai marine sponge *Petrosia* sp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 16: 6560–6567.
- Seo, Y., Cho., K.W., Rho, J., and Shin J. 1998. Petrocortynes and petrosiacetylenes, novel polyacetylenes from a sponge of the genus *Petrosia*. *Tetrahedron*. 54: 447–462.
- Setyowati, E.P., Sudarsono, dan Wahyuono, S. 2005. Jaspamide: Identifikasi struktur senyawa sitotoksik dan fungisid dari spon *stylissa flabelliformis*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16(1): 12–19.
- Setyowati, E.P., Jenie., U.A., Sudarsono, Kardono, B., Rahmat, R., dan Meiyanto, E. 2007. Isolasi senyawa sitotoksik spon kaliapsis. *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(4): 183–189.
- Shen, Y. C., Prakash, C.V.S., and Guh, J. 2004. New pentacyclic polyketide dimeric peroxides from a Taiwanese marine sponge *Petrosia elastic*. *Tetrahedron letters*. 45: 2463–2466.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., and Morrill, T.C. 1991. *Spectrometric, Identification of Organic Componuds*, 5th Ed., John Willey and Sons, New York,
- Sumaryono, W., Widodo, A.E., dan Chaidir. 2005. Isolasi dan elusidasi struktur senyawa utama dari sponge *Axynissa aplysinoides*. *Majalah Farmasi*. 16(4): 186–191.
- Ueoko, R., Ise, Y., and Matsunaga, S. 2009. Polyacetylenes related to Petroformyne-1 from the marine sponge *Petrosia* sp. *Tetrahedron*. 65: 5204–5208.
- Yalcin, F.N. 2007. Biological activities of the Marine Sponge *Axinella*. *Hacettepe University*. 27: 47–60.
- Yulia, M. dan Handayani D. 2009. Skrining antibakteri dan sitotoksis ekstrak dan fraksi spon laut ex perairan Mandeh, Pesisir Selatan, Sumatera Barat. *Laporan Penelitian*. Universitas Andalas.

