



SKRIPSI

**LIPID MAKROALGA *Ceratodictyon spongiosum*:
SEBAGAI BIOMARKA DAN SENYAWA BIOAKTIF**

**KARABEN IKHTIYANA IKRARI
NRP 1411 100 075**

**Dosen Pembimbing
Prof. Dr. R.Y. Perry Burhan, M.Sc
Drs. Agus Wahyudi, M.S.**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2015**



SCRIPT

**LIPID OF MACROALGAE *Ceratodictyon spongiosum*:
ROLE AS BIOMARKERS AND BIOLOGICALLY ACTIVE
COMPOUNDS**

KARABEN IKHTIYANA IKRARI
NRP 1411 100 075

Advisor Lecturer
Prof. Dr. R.Y. Perry Burhan, M.Sc
Drs. Agus Wahyudi, M.S.

CHEMISTRY DEPARTMENT
FACULTY OF MATHEMATICS AND SCIENCE
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2015

**LIPID MAKROALGA *Ceratodictyon spongiosum*: SEBAGAI
BIOMARKA DAN SENYAWA BIOAKTIF**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
sarjana program studi S-1
Jurusan Kimia,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Oleh:

KARABEN IKHTIYANA IKRARI
NRP 1411 100 075

Surabaya, 22 Mei 2015

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2015**

LEMBAR PENGESAHAN

**LIPID MAKROALGA *Ceratodictyon spongiosum*: SEBAGAI
BIOMARKA DAN SENYAWA BIOAKTIF**

SKRIPSI

Oleh:

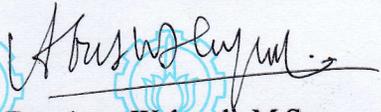
KARABEN IKHTIYANA IKRARI
NRP 1411 100 075

Surabaya, 8 Juli 2015

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II


Prof. Dr. R.Y. Perry Burhan, M.Sc
NIP. 19590215 198701 1 001


Drs. Agus Wahyudi, M.S.
NIP. 19600815 198803 1 004

Mengetahui:
Ketua Jurusan Kimia,


Hamzah Fansuri, M.Si., Ph.D.
NIP. 19691017 199412 1 001

LIPID MAKROALGA *Ceratodictyon spongiosum*: SEBAGAI BIOMARKA DAN SENYAWA BIOAKTIF

Nama Mahasiswa : KARABEN IKHTIYANA IKRARI
NRP : 1411 100 075
Jurusan : KIMIA FMIPA-ITS
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. R. Y. PERRY BURHAN, M.Sc
Drs. AGUS WAHYUDI, M.S

Abstrak

Makroalga *Ceratodictyon spongiosum* merupakan jenis alga filum Rhodophyta yang banyak ditemukan di perairan tropis pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur. Kondisi ekosistem wilayah tersebut memungkinkan organisme makroalga menghasilkan berbagai bahan organik yang bersifat aktif sebagai agen pertahanan. Bahan organik tersebut merupakan senyawa khas untuk organisme makroalga yang dapat menjadi marka bioaktivitasnya. Ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* berhasil dipisahkan dari fraksi *n*-heksana ekstrak metanol menggunakan kromatografi cair – spektroskopi massa. Identifikasi lipid dominan menghasilkan beberapa fosfolipid dan glikolipid serta satu jenis PUFA. Fraksi *n*-heksana ekstrak metanol diketahui aktif terhadap bakteri gram negatif *E. coli* dan bakteri gram positif *S. aureus*. Senyawa-senyawa isolat dapat digunakan sebagai marka makroalga *Ceratodictyon spongiosum* serta bioaktivitasnya pada perairan tropis.

Kata kunci: Ceratodictyon spongiosum, biomarka, bioaktif, lipid

LIPID OF MAKROALGAE *Ceratodictyon spongiosum*: ROLE AS BIOMARKERS AND BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Name : KARABEN IKHTIYANA IKRARI
NRP : 1411 100 075
Department : CHEMISTRY FMIPA-ITS
Advisor Lecturer : Prof. Dr. R. Y. PERRY BURHAN, M.Sc
Drs. AGUS WAHYUDI, M.S

Abstract

Macroalgae *Ceratodictyon spongiosum* represent of phylum Rhodophyta which is highly found in tropical ocean Talango island, Sumenep, Jawa Timur. The ecosystem of those area enable the macroalgae producing various biologically active organic substances. The organic substances characterize the typical compound for those macroalgae which can be biologically active markers. The result compounds were extracted from *n*-hexane fraction of methanol extract by liquid chromatography – mass spectrometry. Major lipid of macroalgae *Ceratodictyon spongiosum* obtained as phospholipid, glycolipid and PUFA. *N*-hexane fraction of methanol extract was evaluated for antibacterial activity against gram-negative strain *E. coli* and gram-positive strain *S. aureus*. The result compounds are useful as biomarker of macroalgae *Ceratodictyon spongiosum* and its antibacterial activity in those area.

Keywords: Ceratodictyon spongiosum, biomarker, bioactive, lipid

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “**LIPID MAKROALGA *Ceratodictyon spongiosum*: SEBAGAI BIOMARKA DAN SENYAWA BIOAKTIF**”

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. R. Y. Perry Burhan, MSc selaku dosen pembimbing dan dosen wali yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
2. Drs. Agus Wahyudi, M.S, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan serta pengarahan selama proses penyusunan naskah Skripsi ini.
3. Tim Riset Geokimia Molekular dan rekan-rekan seperjuangan yang selalu membantu, memberikan semangat, doa dan dukungannya.
4. Kedua orang tua dan keluarga besarku yang selalu memberi dukungan dan doa.
5. Teman-teman mahasiswa Non Warga C, CHEMITS '11, serta senior yang selalu memberikan semangat untuk mengerjakan Skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan naskah skripsi ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun. Semoga naskah skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 8 Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
Abstrak	v
Abstract	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan.....	4
1.5 Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Lipid Sebagai Biomarka pada Ekosistem Lautan.....	7
2.1.1 Asam Lemak.....	7
2.1.2 Fosfolipid.....	8
2.1.3 Glikolipid.....	9
2.2 Makroalga.....	9
2.3 Metode Pemisahan dan Pemurnian.....	15
2.3.1 Maserasi.....	15
2.3.2 Ekstraksi Cair – Cair.....	16
2.3.3 Kromatografi	16
2.4 Metode Identifikasi Senyawa	18

2.5 Uji Antimikroba	18
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Alat dan Bahan	21
3.1.1 Alat	21
3.1.2 Bahan.....	21
3.2 Prosedur Kerja.....	21
3.2.1 Pengumpulan dan Identifikasi Sampel Invertebrata Laut	21
3.2.2 Ekstraksi Lipid	22
3.2.3 Skrining Bioaktivitas Senyawa PUFA dari Ekstrak Pekat	23
3.2.4 Identifikasi Kandungan Senyawa	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Identifikasi Sampel Makroalga.....	25
4.2 Ekstraksi	26
4.3 Skrining Uji Bioaktivitas Ekstrak Pekat.....	27
4.4 Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Metanol	29
4.4.1 Fraksi 1	29
4.4.2 Fraksi 2.....	34
4.4.3 Fraksi 3.....	35
4.4.4 Fraksi 4.....	37
4.4.5 Fraksi 5.....	41
4.4.6 Fraksi 6.....	42
4.5 Lipid Sebagai Senyawa Biomarka.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Skema alat kromatografi kolom gravitasi.....	23
Gambar 4.1 Sampel makroalga <i>Ceratodictyon spongiosum</i>	25
Gambar 4.2 Zona bening di sekitar lubang ekstrak makroalga <i>Ceratodictyon spongiosum</i> pada masing-masing pelarut terhadap dua bakteri uji. A: media bakteri <i>E.</i> <i>coli</i> ; B: media bakteri <i>S. aureus</i> ; 1: pelarut <i>n</i> - heksana; 2: pelarut etil asetat; 3: pelarut metanol; +: kontrol positif streptomycin	28
Gambar 4.3 Kromatogram ion total fraksi 1.....	30
Gambar 4.4 Spektrum massa senyawa PA(17:2(9Z,12Z)/20:0) ..	31
Gambar 4.5 Spektrum massa PE(17:2(9Z,12Z)/0:0)	32
Gambar 4.6 Spektrum massa PC(2:0/18:3(6Z,9Z,12Z)).....	33
Gambar 4.7 Kromatogram ion total fraksi 2.....	34
Gambar 4.8 Spektrum massa DGDG(18:2(2E,4E) /20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)).....	34
Gambar 4.9 Kromatogram ion total fraksi 3.....	36
Gambar 4.10 Spektrum massa DGDG(2:0/13:0).....	36
Gambar 4.11 Kromatogram ion total fraksi 4.....	37
Gambar 4.12 Spektrum massa PA(2:0/2:0).....	38
Gambar 4.13 Spektrum massa PC(20:4(5E,8E,11E,14E)/ 22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	39
Gambar 4.14 Fragmentogram <i>m/z</i> 150	40

Gambar 4.15 Spektrum massa 20:4(<i>n</i> -6) asam arakhidonoat.....	40
Gambar 4.16 Kromatogram ion total fraksi 5	41
Gambar 4.17 Spektrum massa PA(17:2(9Z,12Z)/0:0).....	42
Gambar 4.18 Kromatogram ion total fraksi 6	43
Gambar 4.19 Spektrum massa PA(6:0/6:0).....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Aktivitas hambat ekstrak makroalga dalam beberapa pelarut pada bakteri uji.....	29
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A. SKEMA KERJA.....	49
LAMPIRAN B. HASIL IDENTIFIKASI SAMPEL.....	50
LAMPIRAN C. PERHITUNGAN	51

DAFTAR SINGKATAN

AA	: Arachidonic Acid / asam arakhidonoat
DGCC	: 1,2-diasilgliseril-3-O-karboksi-(hidroksimetil)-kolin
DGDG	: digalaktosildiasilgliserol
DGTA	: 1,2-diasilgliseril-3-O-2'-(hidroksimetil)- (N,N,N-trimetil)- β -alanin
DGTS	: 1,2-diasilgliseril-3-O-4'(N,N,N-trimetil)- β -alanin
EPA	: eicopentaenoic acid
FAME	: <i>Fatty Acid Methyl Ester</i> / asam lemak metil ester
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LC-MS	: <i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i>
MEP	: metil-D-sirtirtol 4-fosfat
MGDG	: monogalaktosildiasilgliserol
MS	: <i>Mass Spectrometry</i>
MVA	: mevelonat
PA	: asam fosfatidoat
PC	: fosfatidilkolin
PE	: fosfatidiletanolamina
PG	: fosfatidilgliserol
PI	: fosfatidilinositol
PS	: fosfatidilserina
PUFA	: <i>Poliunsaturated Fatty Acid</i> / asam lemak tidak jenuh jamak
SQDG	: sulfokuinonosildiasilgliserol
TAG	: triasilgliserol
TIC	: <i>Total Ion Chromatogram</i> / kromatogram ion total

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lautan merupakan salah satu ekosistem yang memberikan informasi senyawa bahan alam dengan struktur unik yang terkandung dalam organisme yang hidup di dalamnya (Jha dan Zirong, 2004). Senyawa bahan alam yang dihasilkan dari organisme laut memberikan informasi berbagai aspek yang dapat dipelajari lebih lanjut. Salah satu aspek tersebut adalah aspek ekologi yakni adanya senyawa biogenik pada alga yang berguna sebagai agen pencegah pengotor, terdapat senyawa kimia sebagai agen pertahanan, salah satunya adalah senyawa antimikroba invertebrata laut. Blunt, dkk (2006) merangkum beberapa penelitian yang mengkaji aspek senyawa yang khas pada organisme laut tertentu, seperti metabolit sitotoksik, antikoagulan, antimikroba dan antijamur, toksin, dan beberapa senyawa bioaktif. Golongan senyawa spesifik yang ditemukan adalah peptida dan beberapa lipid serta turunannya.

Organisme laut menghasilkan senyawa lipid dan turunannya yang bervariasi dikarenakan karakteristik yang khas dari lingkungan hidup organisme tersebut (Berge dan Barnathan, 2005). Lipid pada beberapa organisme laut memegang peran pada fungsi struktural pada membran sel dan juga memiliki peran dalam penyedia sumber energi jangka panjang (Battey dan Patton, 1984). Beberapa spesies koral mengandung lipid yang digunakan sebagai penunjang kebutuhan kalori hidup pada kondisi kurang sinar matahari, dimana tidak ada siklus karbon dari fotosintesis alga (Davies, 1991). Komposisi dan proporsi asam lemak pada organisme laut memiliki karakteristik tertentu bergantung pada spesies, genus, dan keadaan lingkungan. Senyawa bioaktif dari lipid biasanya dalam bentuk asam lemak tidak jenuh jamak (*Polyunsaturated Fatty Acids* / PUFA). Senyawa ini berguna untuk kesehatan manusia, yakni dibutuhkan dalam reproduksi dan

pertumbuhan (Berge and Barnathan, 2005). Lipid dan asam lemak dapat digunakan untuk menentukan produk bahan biogenik suatu organisme yang berasal dari organisme lainnya seperti organisme simbiosis maupun makanannya (Parrish dkk., 2000).

Kondisi lingkungan hidup organisme laut yang bervariasi menyebabkan setiap organisme menghasilkan suatu metabolit sekunder yang spesifik dengan peranan yang hanya sesuai untuk masing-masing spesies. Umumnya, produk bahan alam yang dihasilkan digunakan sebagai agen pertahanan dari organisme lain yang mengancam kelangsungan hidup organisme tersebut, seperti predator atau berbagai mikroba parasit. Kemampuan bahan alam sebagai agen pertahanan tersebut dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologis yakni sebagai senyawa penghambat mikroba patogen yang menyebabkan berbagai macam penyakit pada manusia (Kristanti, dkk., 2008). Pada perairan tropis, berbagai organisme laut dapat tumbuh dengan baik. Pertumbuhan suatu organisme tertentu dapat mengganggu organisme yang lain, baik sebagai parasit maupun predator. Oleh karena itu, suatu organisme akan menghasilkan suatu senyawa bahan alam spesifik yang bersifat aktif sebagai pertahanan diri dari ancaman organisme lain. Hal ini mendasari hipotesis bahwa senyawa bahan alam yang spesifik untuk setiap organisme dapat menjadi suatu marka bioaktivitasnya.

Senyawa marka biologi atau biomarka merupakan parameter yang dapat mewakili suatu senyawa dalam jalur biosintesis. Biomarka dapat digunakan sebagai penanda dari suatu organisme individu atau kelompok organisme, atau proses yang terjadi pada suatu lingkungan (Parrish, dkk., 2000). Selain itu, biomarka dapat digunakan sebagai indikator dari proses biologis, proses patogenik, atau respon farmakologi terhadap terapi tertentu (Anon, 2001). Biomarka lebih mudah digunakan untuk menentukan beberapa variabel yang tidak secara langsung berhubungan dengan biomarka tersebut, informasi klinis dalam pendekatan medis atau farmasi, informasi bagian tertentu dari sel

dalam studi biologi seluler, dan penentuan senyawa bioaktif (Aronson, 2005 ; Peters, dkk., 2005).

Salah satu jenis organisme laut adalah makroalga. Makroalga merupakan kumpulan tumbuhan alga dalam jumlah besar, alga sendiri adalah organisme produsen utama di bumi. Makroalga dibagi dalam empat golongan dasar, yaitu alga biru-hijau (Cyanophyta/Cyanobacteria), alga hijau (Chlorophyta), alga cokelat (Phaeophyta), dan alga merah (Rhodophyta) (Millar, 2009). Makroalga memiliki kandungan senyawa bahan alam hasil metabolisme sekunder yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif (Lima-Filho, dkk., 2002 ; Lipton, dkk., 2009). Alga mengandung sterol yang bervariasi strukturnya. Sterol bersama-sama fosfolipid berfungsi sebagai membran yang memiliki kemampuan sebagai pengatur aliran dalam membran, mempengaruhi berbagai fungsi membran dan enzim penghubung membran. Sterol berpotensi sebagai senyawa biomarka dikarenakan kestabilan dan variasi strukturnya (Parrish, dkk., 2000). Selain itu, makroalga mengandung asam lemak dengan jenis PUFA antara 10-70% dari total asam lemak. Senyawa PUFA dari makroalga merupakan karakteristik biomarka organisme makroalga yang dapat menjadi pembeda antara satu jenis alga dengan yang lainnya. Beberapa senyawa PUFA yang ditemukan dalam makroalga antara lain asam arakhidonoat (20:4n-6) dan asam eikosapentaenoat (20:5n-3) yang merupakan prekursor dari bioregulator prostaglandin, tromboksana, dan eikosanoida yang lainnya (Fleurence, dkk., 1994).

Perairan Indonesia merupakan wilayah dengan keanekaragaman hayati yang cukup melimpah, salah satunya adalah perairan pulau Talango, Kabupaten Sumenep. Perairan ini diketahui mengandung berbagai jenis organisme laut yang berpotensi mengandung berbagai senyawa bioaktif. Salah satu jenis organisme laut yang ditemukan di perairan Pulau Talango adalah makroalga *Ceratodictyon spongiosum*. Penelitian mengenai makroalga jenis ini dari wilayah perairan lain melaporkan bahwa makroalga tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder dengan

berbagai efek farmakologis. Beberapa senyawa tersebut adalah senyawa isomer heptapeptida siklik dengan thiazol (Tan, dkk., 2000), golongan ceramide dan sterol (Lo, dkk., 2001), derivat asam piruvat (Bugni, dkk., 2002), dan ceratodictyols yakni senyawa turunan ether (Akiyama, dkk., 2009). Senyawa-senyawa tersebut tidak tergolong sebagai lipid golongan PUFA yang dapat menjadi pembeda antara satu spesies dengan yang lain. Keberadaan komponen kimia makroalga *Ceratodictyon spongiosum* disebabkan kebutuhan organisme tersebut untuk mempertahankan diri atau untuk berkembang biak. Lingkungan perairan pulau Talango yang merupakan bagian dari perairan tropis memungkinkan berbagai mikroba untuk berkembang dengan baik. Oleh sebab itu, makroalga yang hidup pada perairan tersebut seharusnya mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat melindunginya dari serangan mikroba (antimikroba).

1.2 Permasalahan

Permasalahannya adalah apakah makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dari perairan pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur mengandung senyawa lipid golongan PUFA yang dapat digunakan sebagai biomarka bagi makroalga tersebut.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sampel yang digunakan merupakan makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dari Pulau Talango, Sumenep. Komponen yang dikaji adalah fraksi *n*-heksana dari ekstrak metanol.

1.4 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa lipid golongan PUFA yang diisolasi dari makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dari perairan pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur serta korelasinya sebagai biomarka.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pengetahuan baru dalam bidang kimia biomarka yakni informasi

mengenai senyawa metabolit sekunder spesifik dari makroalga *Ceratodictyon spongiosum* sebagai senyawa biomarka makroalga di perairan tropis.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

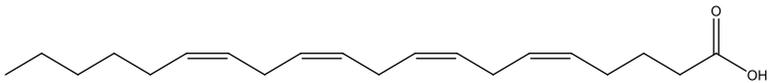
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lipid Sebagai Biomarka pada Ekosistem Lautan

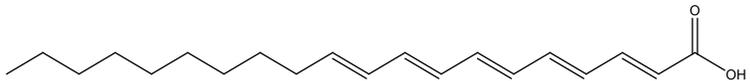
Biomarka merupakan senyawa atau kumpulan senyawa yang dapat digunakan sebagai penanda dari individu organisme atau kelompok organisme, atau proses tertentu yang terjadi di lingkungan. Biomarka lipid dapat digunakan untuk mengetahui kondisi ekosistem dan derajat keterpengaruhannya oleh daratan atau antropogenis (Parrish, dkk., 2000). Senyawa biomarka yang baik merupakan senyawa yang unik dan mudah terdeteksi, selain itu juga stabil dalam proses metabolisme (Dalsgaard, dkk., 2003).

2.1.1 Asam Lemak

Ekstrak lipid organisme laut hampir selalu mengandung asil lipid dengan kontribusi utama. Penentuan individu gugus asam lemak dilakukan melalui asam lemak metil ester (FAME) yang diperoleh dari reaksi transesterifikasi. Asam lemak merupakan penyusun utama sebagian besar lipid (Nyssen, dkk., 2005). Informasi yang diperoleh dari asam lemak adalah mengenai siklus karbon dan transfer bahan melalui jaring-jaring makanan. Salah satu jenis asam lemak yang penting adalah *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Beberapa jenis PUFA yang banyak dihasilkan organisme laut adalah asam arakhidonoat (AA) (1) dan asam eicosapentaenoat (EPA) (2) (Parrish, dkk., 2000).



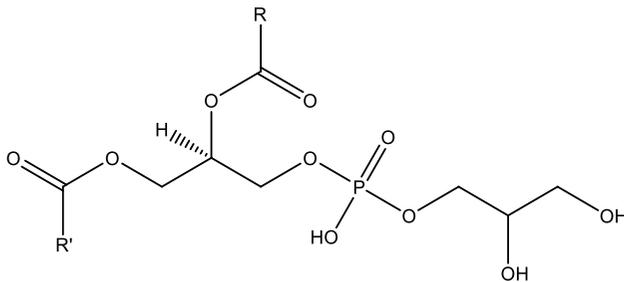
(1)



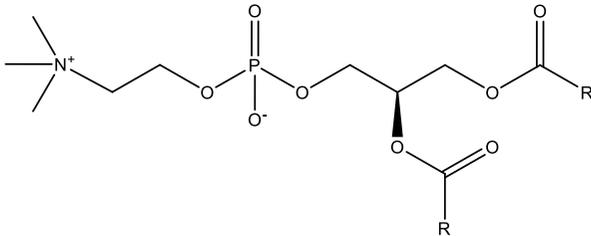
(2)

2.1.2 Fosfolipid

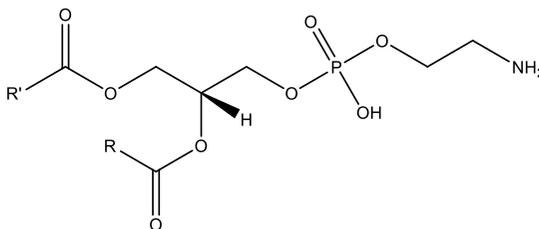
Fosfolipid merupakan komponen esensial penyusun membran bersama dengan sterol (Parrish, dkk., 2000). Kandungan fosfolipid yang dominan pada alga hijau adalah PG (3), PC (4) pada alga merah, sedangkan alga cokelat dominan PC dan PE (5) (Kumari, dkk., 2013). Secara umum, fosfolipid ada antara 10-20% dari total lipid alga.



(3)



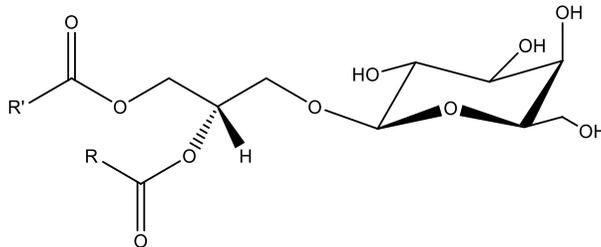
(4)



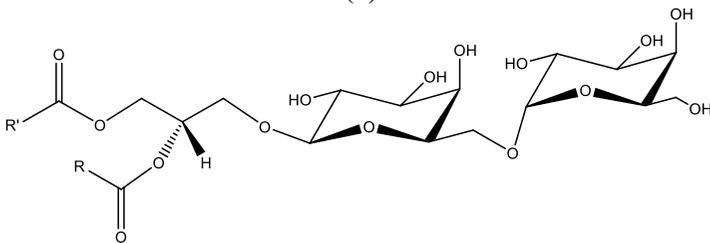
(5)

2.1.3 Glikolipid

Glikolipid termasuk bagian dari membran fotosintesis. MGDG (6) dominan pada alga hijau dan merah, sedangkan alga cokelat dominan dengan DGDG (7). Disamping itu juga terkandung asam lemak C16 dan C18 pada alga hijau, C20 pada alga merah, dan semuanya terkandung pada alga cokelat (Kumari, dkk., 2013).



(6)



(7)

2.2 Makroalga

Makroalga adalah anggota dari kelompok besar tumbuhan yang disebut alga. Alga merupakan tumbuhan primitif yang berfotosintesis, oleh karena itu alga disebut sebagai produsen utama di bumi. terdapat dua jenis alga, yaitu jenis alga bersel satu (phytoplankton) dan jenis alga multiseluler (makroalga atau *seaweeds*). Makroalga memperoleh semua nutrisinya secara langsung dari air sekelilingnya melalui jaringannya, dan menahan talus di dasar laut. Makroalga berbeda dengan rumput laut. Rumput laut mirip dengan tumbuhan darat yakni memiliki adanya

akar, jaringan pembuluh, dan menghasilkan bunga dan serbuk sari (Millar, 2009).

Makroalga merupakan tumbuhan *benthic*, yaitu jenis tumbuhan yang melekat di dasar laut atau lapisan padat di dasar laut seperti batu karang, batuan, kerang, akar mangrove, lambung kapal, dsb. Posisi pelekatan makroalga di dasar laut ini disebabkan kebutuhan nutrisinya yang diperoleh dari air sekelilingnya, hal ini menyebabkan pergerakan air yang melaluinya harus terus diperbarui, dan posisi pelekatan tersebut meningkatkan proses pembaruan pergerakan air tersebut. Disamping itu, makroalga hanya dapat hidup di *photic zone* wilayah pesisir yang masih dipengaruhi sinar matahari. Hal ini dikarenakan oleh peran makroalga sebagai produsen untuk melakukan fotosintesis.

Makroalga dibagi dalam empat golongan dasar, yaitu alga biru-hijau (Cyanophyta/cyanobacteria), alga hijau (Chlorophyta), alga coklat (Phaeophyta), dan alga merah (Rhodophyta). Dari keempat golongan tersebut, yang paling bervariasi jenisnya adalah alga merah. Perbedaan warna dari alga tersebut disebabkan oleh perbedaan pigmen fotosintesis atau klorofil yang tiap alga gunakan dan memantulkan panjang gelombang dari cahaya yang berbeda.

Makroalga sebagai salah satu produsen utama merupakan penghasil pola dasar asam lemak pada jaring-jaring makanan di lautan. Asam lemak alga merupakan hasil biosintesis di kloroplas berisikan membran thylakoid, dan terutama merupakan hasil esterifikasi menjadi glikolipid yang kaya akan PUFA. Secara umum kandungann lipid alga yang dominan adalah phospholipid, glikolipid (glikosilgliserida), dan gliserollipid non polar (lipid netral), betaine, dan beberapa jenis lipid lain yang khas untuk spesies atau genus tertentu. Panjang rantai dan derajat ketidakjenuhan lebih besar daripada tumbuhan tingkat tinggi. Selain itu, terdapat asam lemak dan produk oksidasinya (oxylipin), dan sterol (Berge dan Barnathan, 2005 ; Kumari, dkk., 2013).

Kandungan fosfolipid yang dominan pada alga adalah fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), dan asam fosfatidoat (PA). Glikolipid yang dominan pada alga adalah monogalaktosildiasilgliserol (MGDG), digalaktosildiasilgliserol (DGDG), dan sulfoquinovosildiasilgliserol (SQDG). Terdapat 3 jenis lipid betaine pada alga yaitu 1,2-diasilgliseril-3-*O*-4'-(*N,N,N*-trimetil)- β -alanin (DGTS), 1,2-diasilgliseril-3-*O*-2'-(hidroksimetil)-(*N,N,N*-trimetil)- β -alanin (DGTA), dan 1,2-diasilgliseril-3-*O*-karboksi-(hidroksimetil)-kolin (DGCC) (Kumari, dkk., 2013).

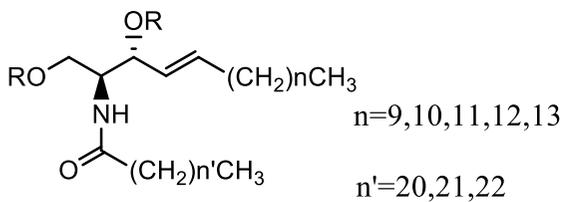
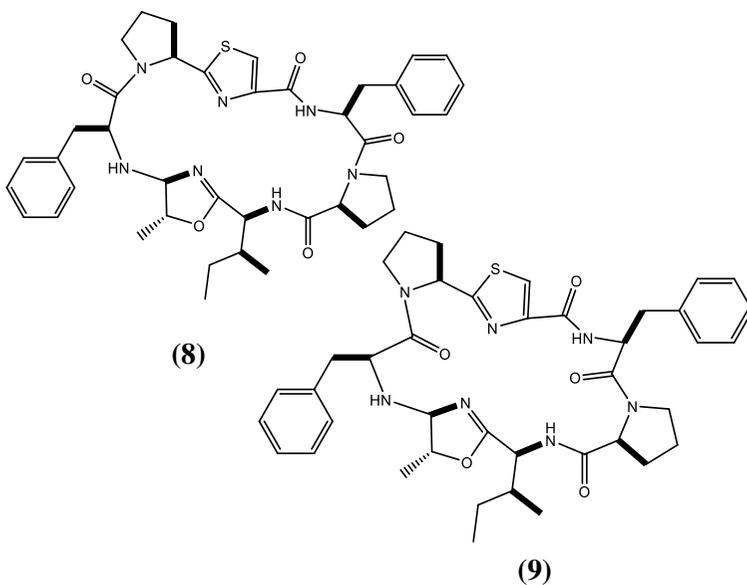
Asam lemak alga umumnya C₁₂ sampai C₂₄ (Kumari dkk., 2013) dengan satu atau lebih ikatan rangkap. Oxylipin bergantung PUFA yang ada, yakni antara C₁₆, C₁₈, C₂₀, C₂₂. Profil asam lemak pada alga memiliki karakteristik masing-masing berdasarkan filumnya dan tidak tergantung pada lokasi geografis tertentu. Alga merah (Rhodophyta) mengandung PUFA C₂₀ dalam jumlah tinggi, utamanya adalah EPA (lebih dari 37,5%) dan asam arakhidonoat (AA, lebih dari 29,4%). Alga cokelat (Phaeophyta) memiliki kandungan PUFA C₁₈, terutama 18:4(n-3) (lebih dari 20,1%). Alga hijau mengandung PUFA C₁₈ dengan kandungan utama adalah 18:3(n-3) dan 18:4(n-3), dan sedikit PUFA C₂₀. Kandungan sterol alga terdiri dari kolesterol, fukosterol, isofukosterol, clionosterol, dihidroksisterol, dan hasil biosintesis dari jalur metabolisme isoprenoid (Berge dan Barnathan, 2005; Graeve, dkk., 2002; Kumari, dkk., 2013).

Salah satu jenis alga merah (Rhodophyta) adalah *Ceratodictyon spongiosum*. Alga ini tersebar luas di perairan tropis Indo-Pasifik mulai dari timur Afrika sampai Shark Bay, Bagian barat Australia, Filipina, dan bagian selatan Jepang. Alga ini tumbuh pada karang zona intertidal dan karang lereng subtidal (kedalaman sekitar 3 m) dan selalu hidup bersimbiosis dengan spons (Price dan Kraft, 1991). Jenis spons yang telah diketahui sebagai simbiosis dari alga ini adalah *Sigmadocia symbiotica* (Lo dkk., 2001) dan *Haliclona*

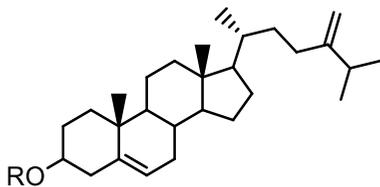
cymaeformis (Bugni, dkk., 2002). Levi (1979) dalam Price, dkk., 1984 menyatakan bahwa *Haliclona (Gellius) cymaeformis* dan *Sigmadocia symbiotica* merupakan organisme yang sama.

Makroalga *Ceratodictyon spongiosum* merupakan jenis alga multiseluler yang ditemukan di alam bersimbiosis dengan spons haplosclerida. Makroalga jenis ini tidak pernah ditemukan dalam keadaan hidup bebas tanpa sponge simbion. Bentuk dasar simbiosis antara makroalga dan spons simbionnya belum diketahui secara pasti, namun simbiosis terhadap spons ini diperkirakan pada beberapa tahap perkembangan atau sebagai bentuk perlindungan dari organisme lain. Beberapa jenis spons merupakan organisme yang bersifat toksik atau tidak disukai oleh organisme lain sehingga dapat memberikan perlindungan yang signifikan untuk makroalga simbion. Menurut laporan Thomassin (1976), makroalga *Ceratodictyon spongiosum* merupakan makanan dari Echinodermata di Madagascar (Price, dkk., 1984).

Alga merah *Ceratodictyon spongiosum* dari Pulau Biaro, Indonesia diketahui mengandung dua senyawa isomer heptapeptida siklik dengan thiazol yang diketahui sebagai senyawa bioaktif, *cis,cis*-ceratospongamida (**8**) dan *trans,trans*-ceratospongamida (**9**) (Tan, dkk., 2000). Alga dengan jenis sama dari Taiwan diketahui mengandung ceramide (**10**) dengan rantai non-hidroksilasi asil bervariasi antara C₂₂ sampai C₂₄, jenis sterol baru (asam *n*-nonadekanoat 24-metilenkolesteril ester) (**11**), dan 6 sterol lain yaitu 24-metilenkolesterol (**12**), kolesterol (**13**), kampesterol (**14**), sitosterol (**15**), 24-hidroperoksi-24-vinilkolesterol (**16**), 6,7-dehidrokolesterol peroksida (**17**) (Lo, dkk., 2001). Spesimen dari Filipina mengandung asam *p*-Sulfooxyphenylpiruvat (**18**) dan asam *p*-hydroxyphenylpiruvat (**19**) (Bugni, dkk., 2002). Enam jenis ceratodictyol (1-glyceryl eter) (**20-25**) ditemukan pada spesimen dari Jepang (Akiyama, dkk., 2009).

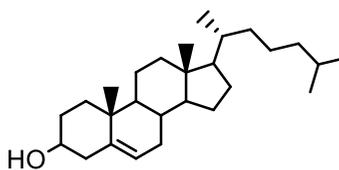


(10) R = H

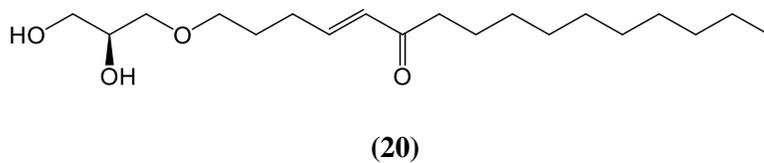
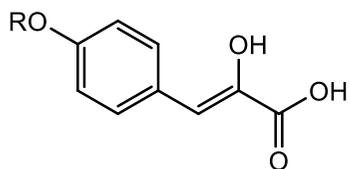
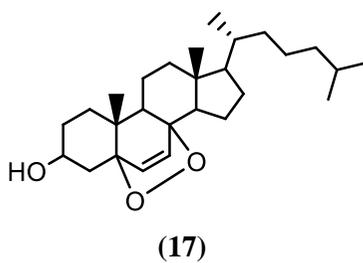
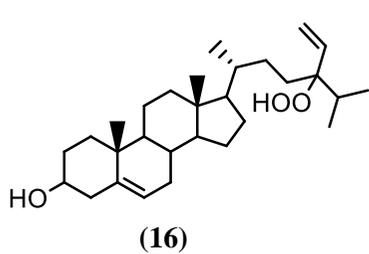
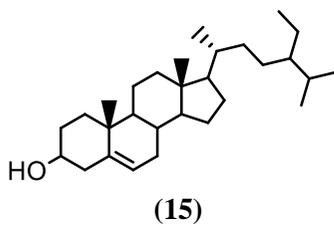
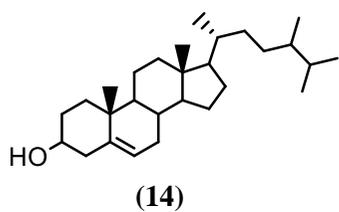


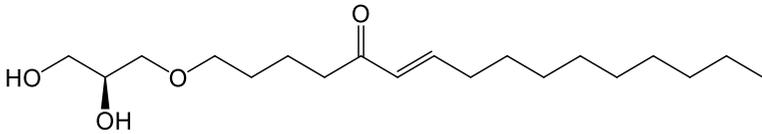
(11) R = CO(CH₂)₁₇CH₃

(12) R = H

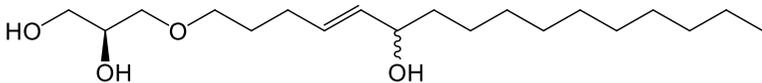


(13)

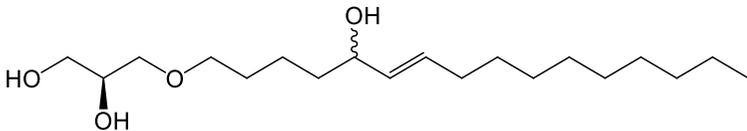




(21)



(22), (23)



(24), (25)

2.3 Metode Pemisahan dan Pemurnian

2.3.1 Maserasi

Salah satu metode pemisahan yang mudah digunakan untuk memisahkan sel-sel dari jaringan sampel organisme adalah maserasi. Maserasi adalah proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruang.

Metode yang dapat digunakan untuk ekstraksi lipid dan asam lemak secara kuantitatif yang terpenting adalah memperhatikan kebutuhan aplikasi biokimia, fisiologi, klinis dan nutrisi. Metode ekstraksi lipid bergantung pada kelarutan konstituen lipid pada pelarut. Ekstraksi pelarut atau campuran pelarut harus cukup polar untuk mengekstrak lipid dari sel sampel, namun tidak terlalu polar yang mengakibatkan pelarut tidak dapat melarutkan semua

triasilgliserol (TAG) dan lipid nonpolar yang lain (Kumari, dkk., 2011).

Salah satu metode ekstraksi dan pemurnian lipid yang cepat dan efisien adalah metode Bligh dan Dyer (1959) menggunakan campuran pelarut metanol dan kloroform. Beberapa metode lain memiliki kekurangan daripada metode Bligh dan Dyer. Metode Dambergs (1956) dan Folch, dkk (1951) terlalu memakan waktu dan tidak sesuai untuk analisa komposisi lipid. Metode Folch (1957) membutuhkan cukup banyak pelarut. Metode Dyer dan Morton (1956) cukup cepat namun hanya mengekstrak satu fraksi dari total lipid.

2.3.2 Ekstraksi Cair – Cair

Diantara beberapa jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut merupakan metode pemisahan yang paling baik. Prinsip pemisahan ini didasarkan pada distribusi zat pelarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Khopkar, 1990). Pemisahan dari pelarut dari dua fase yang tidak saling campur tersebut merupakan fenomena kesetimbangan yang berdasarkan hukum distribusi (Skoog, dkk., 2004). Beberapa penelitian menggunakan campuran pelarut untuk mengekstraksi bahan organik dari makroalga *Ceratodictyon spongiosum*. Tan, dkk. (2000) menggunakan pelarut $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; Bugni, dkk (2002) menggunakan campuran MeOH /heksana dan $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$; Akiyama, dkk (2009) menggunakan $\text{H}_2\text{O}/\text{CHCl}_3$ dan residu dari CHCl_3 dipartisi lagi menggunakan 90% MeOH dan *n*-heksana.

2.3.3 Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode analitik untuk pemisahan dan pemurnian senyawa-senyawa organik dan anorganik. Metode ini berguna untuk fraksinasi campuran kompleks dan pemisahan untuk senyawa-senyawa sejenis (Khopkar, 1990). Teknik kromatografi merupakan pemisahan komponen dari campuran yang didasarkan pada perbedaan laju melalui fase diam dengan

adanya gerakan fase gerak. Secara umum, metode kromatografi dibedakan dalam tiga kategori berdasarkan fase gerak alami, yaitu cair, gas, dan fluida superkritis. Terdapat lima jenis kromatografi cair dan dua jenis kromatografi gas yang dibedakan dari fase diam alami dan jenis kesetimbangan antar fase (Skoog, et al., 2004).

2.3.3.1 Kromatografi Kolom dan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi kolom merupakan jenis metode kromatografi cair-padat dengan jenis kesetimbangan adsorpsi. Kromatografi adsorpsi didasarkan pada retensi zat terlarut oleh adsorpsi permukaan. Pada kromatografi cair-padat, suatu padatan pendukung bertindak sebagai fase diam. Pemisahan bergantung pada kesetimbangan yang terbentuk pada bidang antar muka diantara fase diam dan fase cair yang bergerak serta kelarutan relatif zat terlarut pada fase gerak (Khopkar, 1990).

Biasanya, sebelum dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom, digunakan dahulu kromatografi lapis tipis (KLT). KLT digunakan untuk menentukan kondisi optimal untuk pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Secara teori, jenis fase diam dan fase gerak KLT sama dengan kromatografi kolom. KLT biasa digunakan untuk menentukan kemurnian produk (Skoog, dkk., 2004).

Tan, dkk (2000) menggunakan kromatografi flash dengan pelarut bergradien heksana/EtOAc/MeOH dilanjutkan dengan EtOAc/MeOH (9:1) dan EtOAc/MeOH (1:1) dan yang terakhir menggunakan 100% CHCl_3 kemudian $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (19:1) untuk fraksinasi sampel makroalga. Lo, dkk (2001) melakukan satu kali fraksinasi menggunakan eluen $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3:7). Kromatografi kolom dengan eluen aqueous MeOH (70% MeOH , 30% H_2O) digunakan Bugni, dkk (2002). Akiyama, dkk (2009) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi untuk fraksinasi.

2.3.3.2 Kromatografi Cair

Kromatografi cair merupakan salah satu contoh kromatografi kolom yang utama. Prinsip kromatografi cair adalah kromatografi adsorpsi. Fase diam yang digunakan bersifat polar dan fase gerak bersifat non polar dan merupakan metode yang baik untuk analisis makromolekul, senyawa anorganik atau senyawa ionik, bahan alam non stabil, senyawa farmakologi dan biokimia. Penggunaan kromatografi cair untuk memisahkan lipid memungkinkan untuk terjadi pemisahan dari beberapa kelas senyawa lipid berdasarkan sifat fisikokimianya (Cajka dan Fiehn, 2014).

2.4 Metode Identifikasi Senyawa

Salah satu jenis metode identifikasi senyawa lipid adalah spektroskopi massa. Spektroskopi massa merupakan teknik untuk menentukan massa atom atau molekul. Spektrum massa didapatkan dari ion spesi gas hasil fase kondensasi yang dipercepat menggunakan medan magnet dan terpisah berdasarkan perbandingan massa dengan muatan. Spektrometer massa telah banyak digunakan untuk analisa lipid yang selektif dan sensitif. Penentuan lipid dari spektrum massa dilakukan perbandingan dengan referensi spektra yang tersedia. Beberapa penelitian berhasil menentukan jenis lipid menggunakan spektroskopi massa khususnya dengan perbandingan referensi spektrum massa antara lain identifikasi lipid stem sel mamalia, penelitian lipid alga *Chlamydomonas reinhardtii* dan *Chlorella minutissima*, dan identifikasi lipid Protista berflagelata *Euglena gracilis* (Kind, dkk., 2014).

2.5 Uji Antimikroba

Uji antimikroba merupakan salah satu jenis uji bioaktivitas yang dilakukan untuk mendapatkan gambaran awal mengenai bioaktivitas senyawa hasil isolasi. Uji antimikroba didasarkan pada daya hambat senyawa terhadap infeksi suatu organisme yang disebabkan oleh adanya mikroba patogen. Terdapat 2 metode uji antimikroba yang dapat dilakukan yaitu metode penyebaran (*diffusion*) dan metode pengenceran (*dilution*). Metode dilusi

dilakukan dengan inokulasi media dengan bakteri uji dan diinkubasi. Hasil uji yang diperoleh adalah jumlah substansi antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri uji. Metode difusi dilakukan dengan meletakkan *paper disk* yang mengandung spesimen antimikroba dalam permukaan media padat telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Setelah inkubasi, diameter zona bening menunjukkan kemampuan hambat spesimen terhadap bakteri uji (Brooks dan Jawetz, 2013).

Bakteri yang digunakan umumnya adalah *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Standar antimikroba yang biasa digunakan adalah streptomycin 1 mg/ml atau ampicillin 10 μ g/ml (Kristanti, dkk., 2008). Selektivitas bakteri yang digunakan berdasarkan aktivitas antimikroba adalah antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram negatif jenis bakteri dengan struktur membran sel yang kompleks. Lapisan periplasma mengandung lapisan peptidoglikan tipis dan membran sitoplasma. Bakteri gram positif terdiri dari dinding sel tipis yang menentukan bentuk sel dan membran sitoplasma (Brooks dan Jawetz, 2013).

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kotak *Styrofoam*, gelas kimia, Erlenmeyer, gelas ukur, pengaduk, pipet tetes, corong pisah, botol penampung, oven, *rotary evaporator Buchi Heating Bath B-491*, kolom kromatografi, *Selecta Ultrasons-H*, lampu UV 254/366 nm *Desaga Heiidelburg*, instrumen LC-MS.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah makroalga *Ceratodictyon spongiosum*, *dry ice*, metanol teknis, kloroform p. a., *n*-butanol teknis, *n*-heksana teknis, formaldehida, akuades, silica gel (Merck Kiesgel), plat KLT 20 x 20 cm (Merck Kiesgel F₂₅₄), *molecular sieve*.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Pengumpulan dan Identifikasi Sampel Invertebrata Laut

Spesimen sampel makroalga diambil dari pantai selatan pulau Talango, Desa Kombang, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur pada kedalaman antara 1-2 meter menggunakan teknik *snorkeling* pada bulan April 2014. Penyimpanan sampel dilakukan dalam wadah *styrofoam* berpendingin *dry ice* sampai di Laboratorium, kemudian disimpan di lemari pembeku. Untuk proses identifikasi spesimen, sampel disimpan dalam formaldehida dan air laut. Sampel diidentifikasi taksonomi sampai tingkat spesies di Laboratorium Riset Ekologi Jurusan Biologi, ITS, Surabaya.

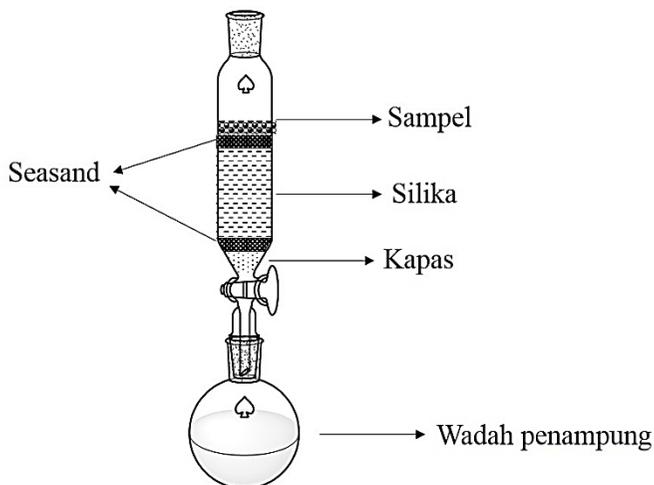
3.2.2 Ekstraksi Lipid

Ekstraksi lipid makroalga dilakukan menggunakan metode maserasi. Seratus gram sampel makroalga basah dipotong kecil-kecil kemudian ditambahkan pelarut metanol secara bertahap 3 x 500 mL masing-masing didiamkan 3 x 24 jam. Maserat metanol disaring menggunakan kertas saring. Residu dilakukan maserasi menggunakan kloroform 1 x 500 mL selama 3 x 24 jam. Maserat kloroform disaring menggunakan kertas saring. Masing-masing maserat dilakukan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak pekat.

Ekstrak pekat dari maserat metanol dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut *n*-heksana 3x (1:1). Campuran dikocok hingga homogen dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan, lapisan atas adalah fase *n*-heksana dan lapisan bawah adalah fase metanol. Fase *n*-heksana dipisahkan, sedangkan fase metanol diekstraksi lagi di corong pisah menggunakan *n*-butanol 3x (1:1). Campuran dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan, lapisan atas merupakan fase metanol dan lapisan bawah merupakan fase butanol. Fase metanol dan fase butanol dipisahkan dan ditampung. Masing-masing fase *n*-heksana dan *n*-butanol dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatkan dengan aliran gas nitrogen dan ditimbang massanya. Ekstrak pekat dari maserat kloroform diberi perlakuan yang sama dengan ekstrak pekat dari maserat metanol.

Sampel fase *n*-heksana dari maserat metanol maupun kloroform dipisahkan menggunakan kromatografi kolom gravitasi. Kolom kromatografi dibuat menggunakan metode kering. Skema alat kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 3.1. Kolom dielusi dengan gradien kepolaran eluen *n*-heksana-etil asetat-metanol. Proses elusi dilakukan dengan meningkatkan perbandingan etil asetat dalam *n*-heksana 10:0 (100 mL); 9:1 (100 mL); 8:2 (100 mL); 6:4 (100 mL); 4:6 (100 mL); 2:8 (100 mL); 0:10 (100 mL) dan metanol dalam etil asetat 8:2 (100 mL); 0:10 (100 mL). Setiap fraksi yang turun ditampung berdasarkan cincin

warna pada kolom. Tiap fraksi diuji KLT dengan eluen *n*-heksanan:etil asetat. Selanjutnya tiap fraksi dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Tiap fraksi dipisahkan menggunakan kromatografi cair – spektroskopi massa (LC-MS).



Gambar 3.1 Skema alat kromatografi kolom gravitasi

3.2.3 Skrining Bioaktivitas Senyawa PUFA dari Ekstrak Pekat

Skrining bioaktivitas senyawa PUFA dilakukan menggunakan uji antimikroba yang dilakukan menggunakan metode difusi lubang. Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Bakteri diinokulasi dengan *nutrient broth* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media pertumbuhan bakteri tersebut dicampurkan dengan agar pada cawan petri steril dan dibiarkan menjadi keras serta dibuat lubang-lubang sesuai kebutuhan. Sampel yang akan diuji dilarutkan dengan pelarut metanol, *n*-heksana, dan etil asetat dan dimasukkan ke dalam lubang. Selain itu juga dimasukkan antibiotik *streptomycin* sebagai kontrol positif dan masing-masing pelarut sebagai kontrol negatif. Cawan

dibiarkan pada suhu kamar selama 2 jam agar terjadi difusi sampel, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. adanya daerah bening pada sekitar lubang menandakan kemampuan antimikroba dari senyawa uji. Untuk mengetahui daya aktivitas dari senyawa uji dilakukan pengukuran daerah bening disekitar lubang.

3.2.4 Identifikasi Kandungan Senyawa

Pengolahan data kromatogram dan spektrum massa dari LC-MS dilakukan menggunakan *open access software* AMDIS dipadukan dengan MS/MS *database* LipidBlast (Kind, dkk., 2013).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Sampel Makroalga

Hasil determinasi sampel makroalga dari perairan pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur menunjukkan bahwa nama ilmiah makroalga tersebut adalah *Ceratodictyon spongiosum* dari filum Rhodophyta (alga merah) (Lampiran B). Bentuk fisik sampel makroalga ditunjukkan pada Gambar 4.1. Rincian klasifikasi taksonomi sampel makroalga adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Phylum : Rhodophyta
Subphylum : Eurhodophyta
Class : Florideophyceae
Subclass : Rhodymeniophycidae
Order : Rhodymeniales
Family : Lomentariaceae
Genus : *Ceratodictyon*
Species : *Ceratodictyon spongiosum*



Gambar 4.1 Sampel makroalga *Ceratodictyon spongiosum*

4.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi (Bligh dan Dyer, 1959). Maserasi menggunakan pelarut metanol sebagai pelarut universal dan bersifat polar dapat mengekstrak semua golongan senyawa sehingga lipid yang bersifat lebih polar dapat terekstrak. Pelarut kloroform digunakan untuk mengekstrak sisa-sisa lipid dari residu dengan kepolaran yang lebih rendah. Ekstrak pekat metanol yang terpisah dari residu berwarna hijau pekat dan berangsur memudar menjadi kuning terang akibat dari pengulangan maserasi. Ekstrak pekat metanol yang telah dievaporasi pelarutnya berbentuk cairan kental berwarna hijau pekat. Residu sampel makroalga berwarna hijau pucat yang menandakan bahwa senyawa kandungannya telah terekstrak dalam pelarut. Ekstrak pekat hasil maserasi pelarut metanol diperoleh sebanyak 88,9857 gram dan dari pelarut kloroform 27,4804 gram dari sampel sebesar 200,6756 gram. Rendemen ekstrak pekat metanol adalah sebesar 44,34% dan ekstrak pekat kloroform sebesar 13,69%.

Ekstrak pekat metanol dan kloroform dipartisi menggunakan metode ekstraksi cair-cair untuk memisahkan antara lipid polar dan lipid yang lebih non polar. Ekstrak pekat metanol dan kloroform dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana dan *n*-butanol. Senyawa dengan kepolaran lebih rendah akan terpartisi kedalam fase *n*-heksana sedangkan senyawa dengan kepolaran yang lebih tinggi terpartisi kedalam fase *n*-butanol. Fase *n*-heksana dari ekstrak metanol yang diperoleh adalah sebesar 4,8455 gram. Fase *n*-heksana dari ekstrak kloroform yang diperoleh adalah sebesar 1,6571 gram.

Fase *n*-heksana yang diperoleh difraksinasi untuk memisahkan senyawa-senyawa menjadi kelompok yang lebih sederhana. Fraksinasi dilakukan menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan gradien kepolaran eluen *n*-heksana - etil asetat - metanol. Hasil pemisahan diperoleh 6 fraksi berdasarkan cincin warna yang menandakan komponen kimia dalam fraksi terdistribusi merata

sesuai dengan tingkat kepolaran. Pemantauan fraksi gabungan dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis. Pada plat KLT gabungan menunjukkan perbedaan pola noda masing-masing fraksi. Noda fraksi 1 berwarna merah kebiruan terelusi hingga titik akhir. Fraksi 2 menunjukkan noda berwarna biru muda keunguan pada sekitar titik akhir. Fraksi 3 menunjukkan adanya noda berwarna biru dan merah muda. Beberapa noda berwarna merah dan merah muda terdapat pada fraksi 4. Noda fraksi 5 tampak pada sekitar titik akhir berwarna kuning, hijau hingga merah. Fraksi 6 menunjukkan noda lebar yang terelusi memanjang hingga titik akhir dengan berbagai variasi warna merah. Masing-masing fraksi dipisahkan menggunakan kromatografi cair dan spektroskopi massa (LC-MS) untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung dalam masing-masing fraksi.

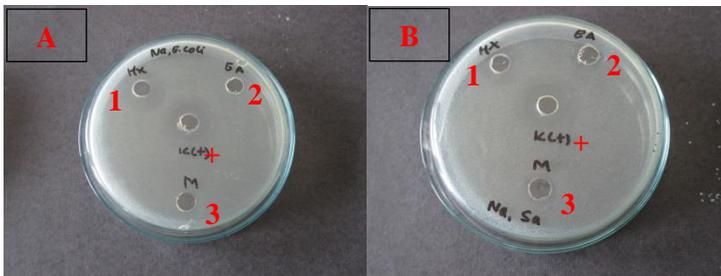
4.3 Skrining Uji Bioaktivitas Ekstrak Pekat

Uji bioaktivitas dari ekstrak pekat dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa PUFA dalam ekstrak. Senyawa PUFA merupakan senyawa turunan lipid yang umumnya merupakan senyawa bioaktif (Berge dan Barnathan, 2005). Uji bioaktivitas ekstrak metanol dan kloroform dilakukan dengan uji antimikroba menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak makroalga dilarutkan pada pelarut *n*-heksana, metanol, dan etil asetat kemudian diujikan pada biakan bakteri menggunakan metode penyebaran (*diffusion*) yaitu metode lubang (*well diffusion method*). Kemampuan hambat atau daya aktivitas ekstrak diketahui dengan adanya zona bening disekitar lubang pada agar biakan bakteri.

Selektivitas bakteri ditentukan berdasarkan perbedaan kemampuan hambat metabolisme sel bakteri dari ketebalan dinding sel. Bakteri gram positif *S. aureus* memiliki dinding sel dengan peptidoglikan yang tebal. Bakteri gram negatif *E. coli* memiliki dinding sel yang lebih tipis daripada bakteri gram positif. Kontrol negatif dari masing-masing pelarut yang

digunakan tidak menunjukkan adanya zona hambat bening pada sekeliling lubang. Hasil tersebut menandakan bahwa pelarut yang digunakan tidak memiliki daya hambat untuk bakteri yang digunakan.

Uji antimikroba dari ekstrak metanol makroalga dalam pelarut metanol maupun pelarut etil asetat hanya menunjukkan aktivitas hambat pada bakteri *S. aureus*. Hasil uji antimikroba bakteri *E. coli* memberikan hasil negatif. Ekstrak makroalga dalam pelarut *n*-heksana menunjukkan adanya aktivitas hambat bakteri yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar lubang. Ekstrak metanol diketahui memiliki aktivitas hambat pada dua bakteri uji yaitu *E. coli* dan *S. aureus* (Tabel 4.1). Gambar 4.2 menunjukkan adanya kemampuan hambat ekstrak pada masing-masing pelarut terhadap dua bakteri uji. Adanya aktivitas hambat yang dominan pada pelarut *n*-heksana diperkirakan terkandung senyawa PUFA dalam ekstrak pekat metanol makroalga *Ceratodictyon spongiosum*.



Gambar 4.2 Zona bening di sekitar lubang ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* pada masing-masing pelarut terhadap dua bakteri uji. A: media bakteri *E. coli*; B: media bakteri *S. aureus*; 1: pelarut *n*-heksana; 2: pelarut etil asetat; 3: pelarut metanol; +: kontrol positif streptomycin

Tabel 4.1 Aktivitas hambat ekstrak makroalga dalam beberapa pelarut pada bakteri uji

Ekstrak	Pelarut					
	<i>n</i> -heksana		Etil asetat		Metanol	
	(mm)		(mm)		(mm)	
	E.C	S.A	E.C	S.A	E.C	S.A
Metanol	15.5	16,0	0	12,0	0	10,35
Kloroform	0	0	0	0	0	0

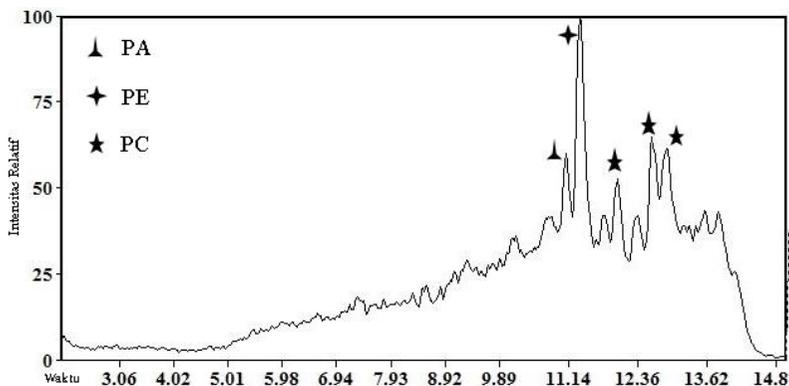
E.C : *E. coli*; S.A : *S. aureus*; mm: milimeter

4.4 Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Metanol

Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak metanol dilakukan menggunakan kromatografi cair spektroskopi massa. Hasil yang diperoleh adalah berupa kromatogram ion total (TIC) dari setiap fraksi yang diidentifikasi. TIC menunjukkan komponen senyawa yang terdapat dalam setiap fraksi yang dianalisa. Spektrum massa sampel dianalogikan sesuai dengan spektrum massa senyawa-senyawa lipid dari *database* LipidBlast (Kind, dkk., 2013).

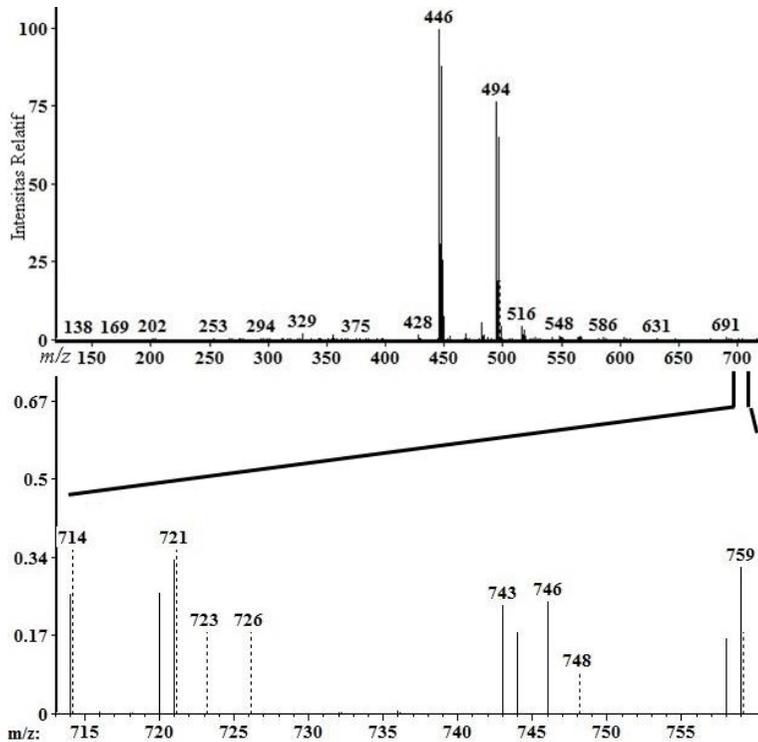
4.4.1 Fraksi 1

Hasil identifikasi TIC fraksi 1 menunjukkan komponen senyawa yang terkandung dalam fraksi 1, sebagaimana ditunjukkan Gambar 4.3. Senyawa fosfolipid dari makroalga *Ceratodictyon spongiosum* pada fraksi 1 diperkirakan berupa gliserofosfokolin (PC), gliserofosfoetanolamina (PE), dan asam fosfatidoat (PA) (Kind, dkk., 2013). Senyawa-senyawa tersebut memiliki kelimpahan yang tinggi dalam fraksi yang ditandai dengan tingginya intensitas puncak pada TIC.

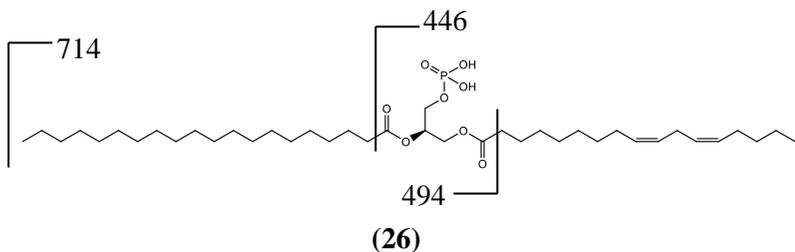


Gambar 4.3 Kromatogram ion total fraksi 1

Identifikasi spektrum massa TIC fraksi 1 dengan intensitas relatif tinggi ditunjukkan Gambar 4.4. Interpretasi spektrum massa menunjukkan ion molekul $[M]^+$ muncul pada m/z 714 dan $[M+Na_2-H]^+$ pada m/z 759. Pemutusan salah satu rantai alifatik menunjukkan puncak dasar pada m/z 446 dan puncak lain pada m/z 494. Senyawa tersebut diperkirakan PA(17:2(9Z,12Z)/20:0) (**26**) dengan rumus molekul $C_{40}H_{75}O_8P$ merujuk Kind, dkk., 2013.

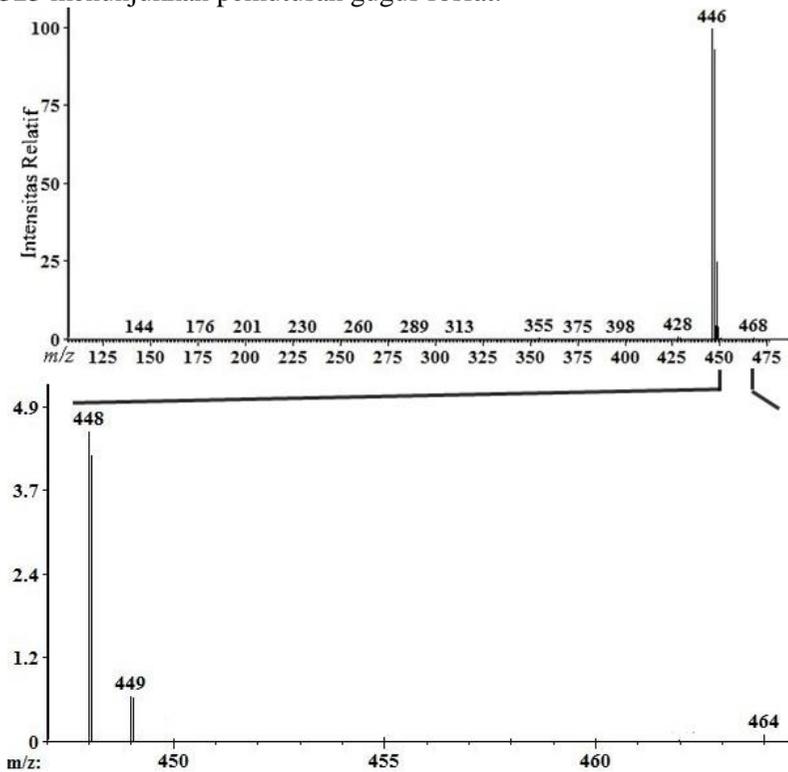


Gambar 4.4 Spektrum massa senyawa PA(17:2(9Z,12Z)/20:0)

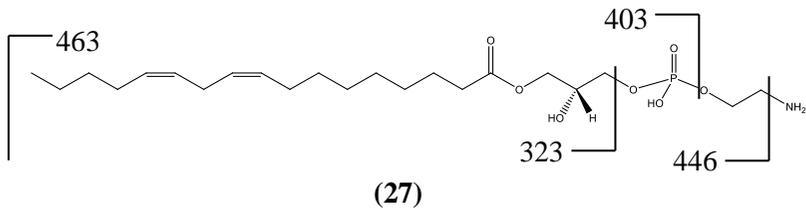


Identifikasi spektrum massa dari puncak TIC fraksi 1 yang lain ditunjukkan pada Gambar 4.5. Interpretasi spektrum massa menunjukkan ion molekul $[M+H]^+$ pada m/z 464. Puncak dasar

spektrum massa pada m/z 446 menunjukkan pemutusan gugus amina. Fragmen m/z 403 menunjukkan putusnya gugus etoksi dan m/z 323 menunjukkan pemutusan gugus fosfat.

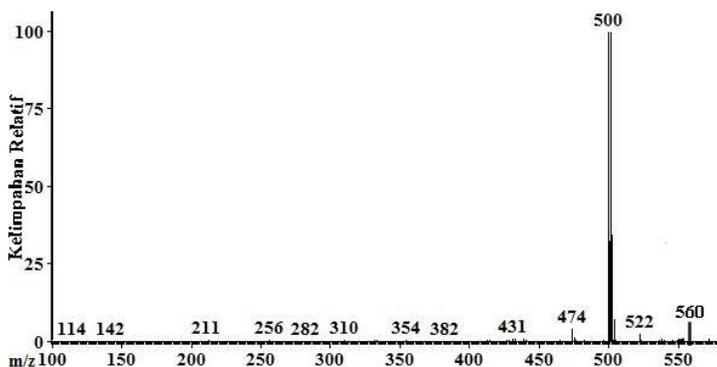


Gambar 4.5 Spektrum massa PE(17:2(9Z,12Z)/0:0)



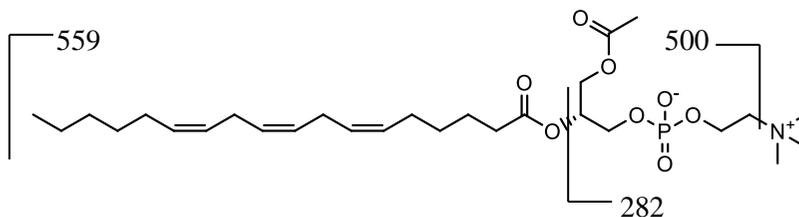
Berdasarkan analisa ion fragmen spektrum massa diperkirakan senyawa tersebut merupakan PE(17:2(9Z,12Z)/0:0) (**27**) dengan rumus molekul $C_{22}H_{42}NO_7P$ sesuai dengan Kind, dkk., 2013. Senyawa (**27**) merupakan senyawa fosfatidiletanolamina yang kehilangan salah satu rantai alifatiknya membentuk lysoPE.

Analisa spektrum massa dari puncak TIC dengan intensitas relatif tinggi lainnya ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Spektrum massa PC(2:0/18:3(6Z,9Z,12Z))

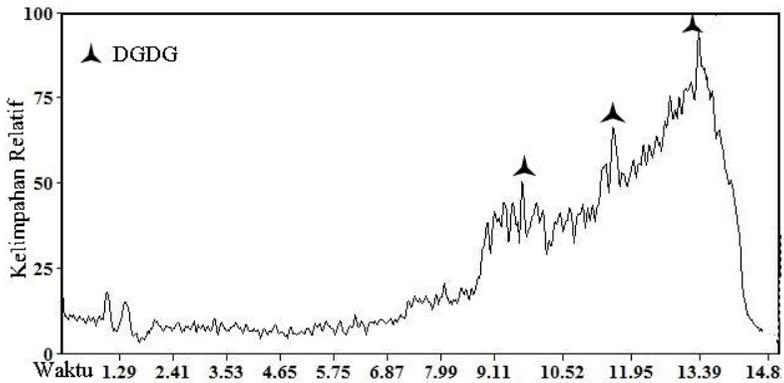
Interpretasi spektrum massa menunjukkan ion molekul $[M+H]^+$ pada m/z 560. Puncak dasar pada m/z 500 menunjukkan pemutusan gugus amina. Pemutusan gugus karboksil menunjukkan fragmen ion pada m/z 282. Berdasarkan analisis fragmen spektrum massa, senyawa tersebut diperkirakan senyawa fosfatidilkolin PC(2:0/18:3(6Z,9Z,12Z)) (**28**) dengan rumus molekul $C_{28}H_{50}NO_8P$ sesuai dengan Kind, dkk., 2013.



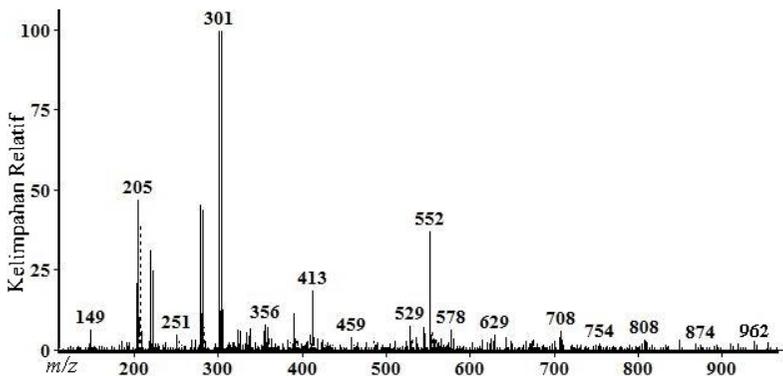
(**28**)

4.4.2 Fraksi 2

Identifikasi TIC fraksi 2 (Gambar 4.7) menunjukkan adanya kelompok senyawa glikolipid dengan variasi panjang rantai alifatik (Kind, dkk., 2013). Identifikasi spektrum massa puncak dengan intensitas tertinggi ditunjukkan pada Gambar 4.8.

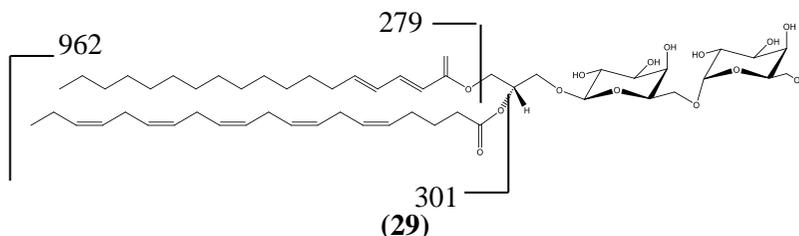


Gambar 4.7 Kromatogram ion total fraksi 2



Gambar 4.8 Spektrum massa DGDG(18:2(2E,4E)
/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)

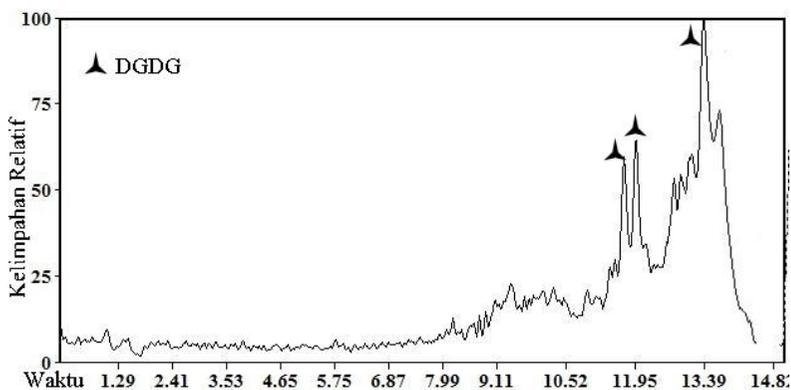
Interpretasi spektrum massa menunjukkan ion molekul $[M]^+$ pada m/z 962. Puncak khas yang muncul pada m/z 301 dan 279 yang menunjukkan pemutusan masing-masing gugus karboksil.



Berdasarkan Kind, dkk., 2013, analisis fragmen spektrum massa tersebut diperkirakan merupakan senyawa DGDG(18:2(2*E*,4*E*)/20:5(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)) (29) dengan rumus molekul $C_{53}H_{86}O_{15}$.

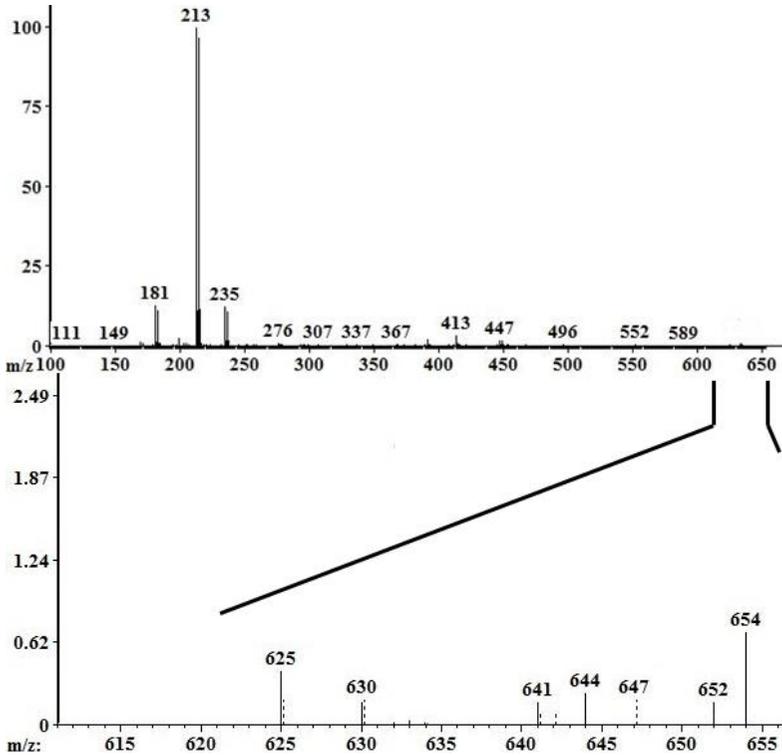
4.4.3 Fraksi 3

Identifikasi TIC fraksi 3 (Gambar 4.9) menunjukkan adanya kandungan senyawa lipid turunan glikolipid sesuai dengan Kind, dkk., 2013. Senyawa dengan kelimpahan relatif tertinggi memiliki rantai alifatik panjang dan sama dengan yang ada pada fraksi 2 yaitu DGDG(18:2(2*E*,4*E*)/20:5(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)) (29).

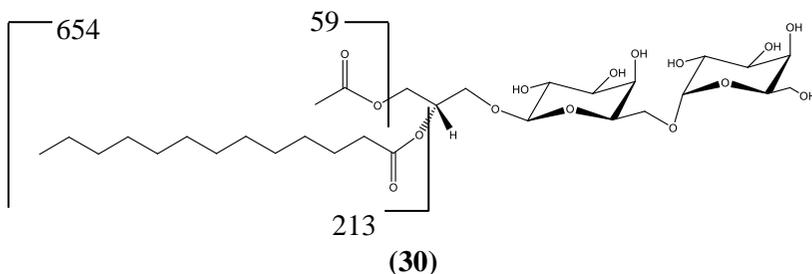


Gambar 4.9 Kromatogram ion total fraksi 3

Interpretasi puncak TIC yang lain (Gambar 4.11) menunjukkan adanya senyawa DGDG lain yang ditunjukkan puncak ion molekul pada spektrum massa $[M]^+$ pada m/z 654. Pemutusan gugus karboksil menunjukkan puncak pada m/z 59 dan 213.



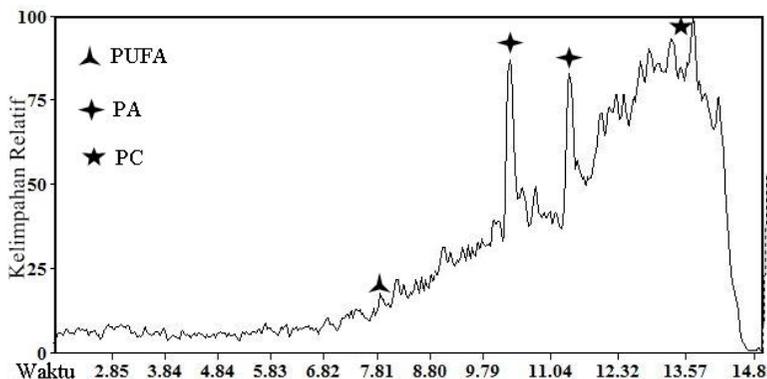
Gambar 4.10 Spektrum massa DGDG(2:0/13:0)



Analisis fragmen spektrum massa tersebut diperkirakan senyawa DGDG(2:0/13:0) (**30**) dengan rumus molekul $C_{30}H_{54}O_{15}$ sesuai dengan Kind, dkk., 2013.

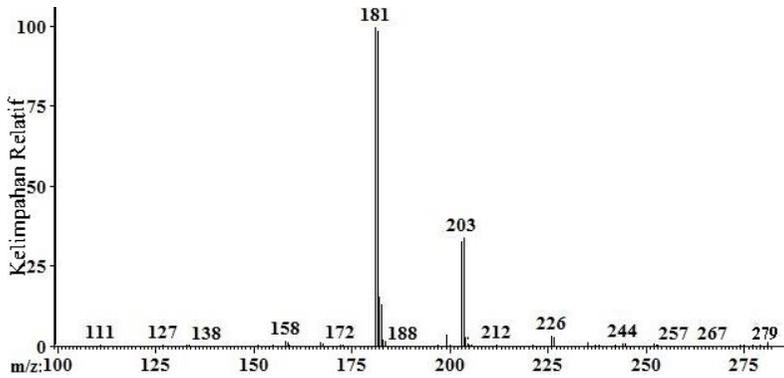
4.4.4 Fraksi 4

Identifikasi TIC fraksi 4 (Gambar 4.12) menunjukkan komponen senyawa asam fosfatidoat dengan rantai alifatik pendek dan fosfatidilkolin serta senyawa PUFA (Kind, dkk., 2013).

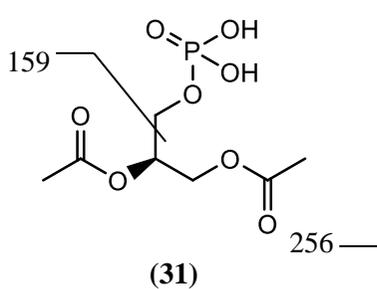


Gambar 4.11 Kromatogram ion total fraksi 4

Interpretasi spektrum massa (Gambar 4.13) menunjukkan Fragmen ion molekul $[M+Na]^+$ pada m/z 279. Fragmen puncak dasar ditunjukkan pada m/z 181. Pemutusan gugus fosfat menunjukkan adanya puncak pada m/z 159.

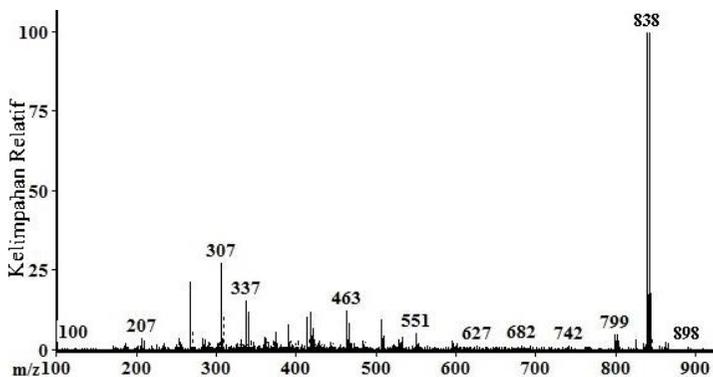


Gambar 4.12 Spektrum massa PA(2:0/2:0)



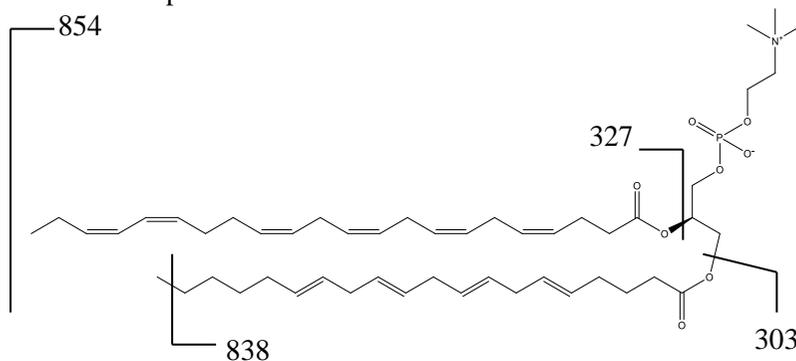
Berdasarkan Kind, dkk, 2013, analisa fragmen spektrum massa tersebut diperkirakan senyawa dengan rumus molekul $C_7H_{13}O_8P$ PA(2:0/2:0) **(31)**.

Senyawa fosfatidilkolin yang terkandung dalam fraksi 4 dapat diketahui dari analisa spektrum massa pada Gambar 4.14.



Gambar 4.13 Spektrum massa PC(20:4(5E,8E,11E,14E)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))

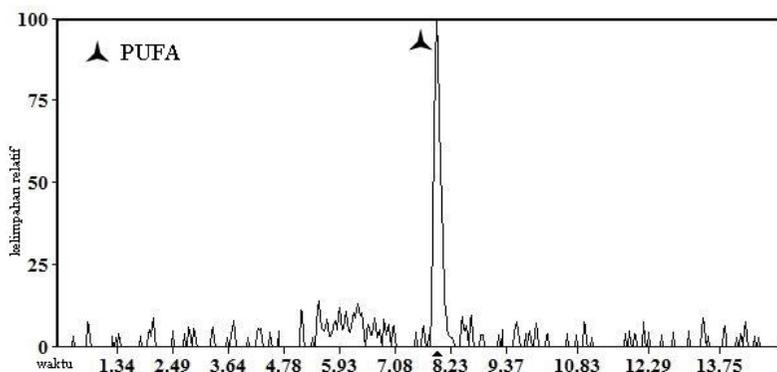
Interpretasi spektrum massa dilakukan sebagai berikut. Ion molekul $[M+HCOO]^-$ muncul pada m/z 898. Puncak dasar spektrum massa pada m/z 838 menunjukkan pemutusan satu metil dari salah satu rantai alifatik. Puncak m/z 303 dan 327 menunjukkan pemutusan salah satu framen karboksil.



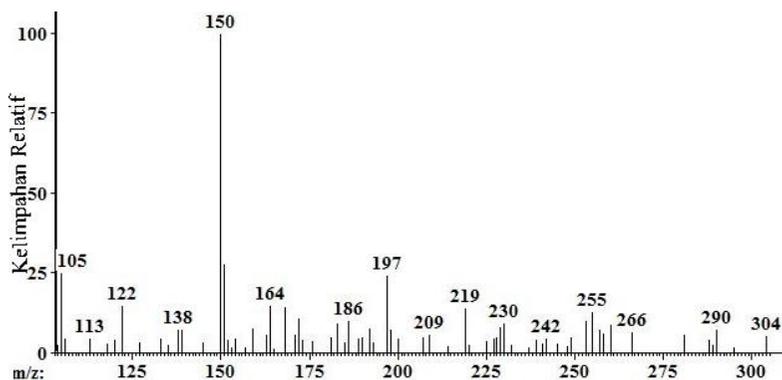
(32)

Analisa fragmen spektrum massa tersebut diperkirakan adalah senyawa PC(20:4(5E,8E,11E,14E)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)) (32) dengan rumus molekul $C_{50}H_{80}NO_8P$.

Senyawa PUFA dapat diidentifikasi melalui fragmen ion khas yang muncul yaitu ion omega. Fragmentogram ion omega kelompok (n-6) muncul pada m/z 150 (Gambar 4.15). Potongan fragmen ion omega merupakan ion alfa yang mengandung gugus karboksil dan dua ikatan rangkap yang pertama. Ion alfa muncul tidak signifikan namun merupakan fragmen yang penting untuk karakterisasi. (Christie, 2013).



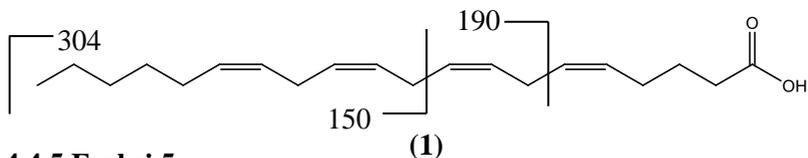
Gambar 4.14 Fragmentogram m/z 150



Gambar 4.15 Spektrum massa 20:4(n-6) asam arakhidonoat

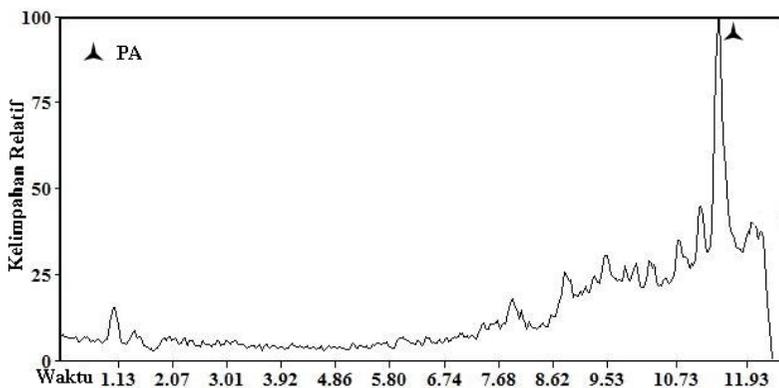
Identifikasi spektrum massa fragmentogram m/z 150 (Gambar 4.16) menunjukkan fragmen ion omega yang merupakan

karakteristik dari separuh asam lemak ($n-6$). Ion McLafferty (m/z 60) selalu muncul dengan intensitas yang sangat kecil pada spektrum massa senyawa PUFA. Merujuk Christie, 2013, pola fragmentasi senyawa tersebut diperkirakan merupakan senyawa asam lemak 20:4($n-6$) asam arakhidonoat (**1**).

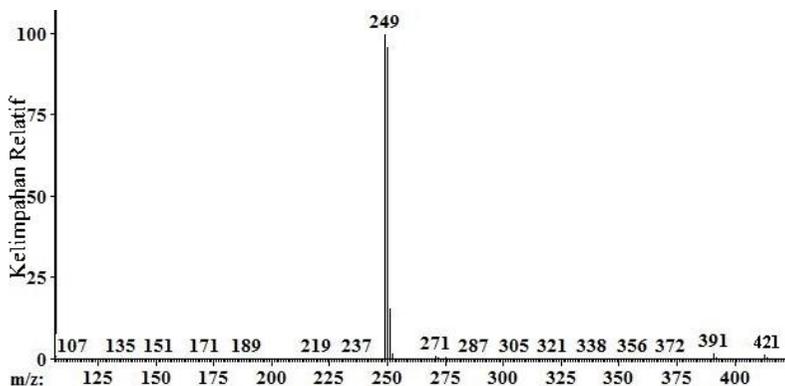


4.4.5 Fraksi 5

Kandungan fraksi 5 diketahui berdasarkan identifikasi TIC (Gambar 4.17) diketahui senyawa asam fosfatidoat (PA) sebagai senyawa dominan dengan kelimpahan relatif tertinggi (Kind, dkk., 2013).

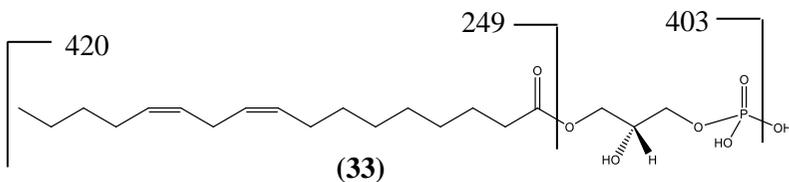


Gambar 4.16 Kromatogram ion total fraksi 5



Gambar 4.17 Spektrum massa PA(17:2(9Z,12Z)/0:0)

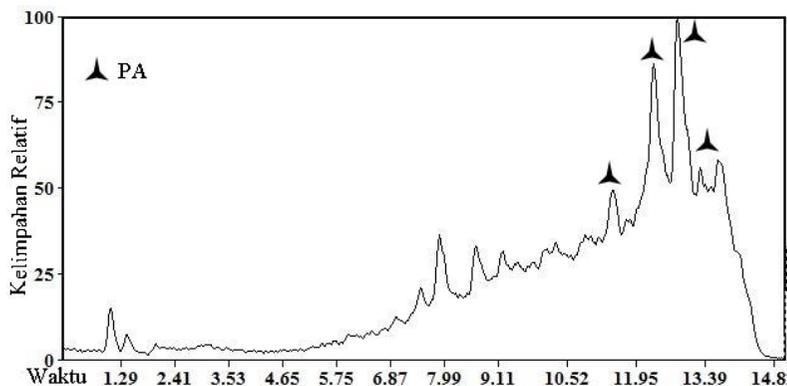
Analisa spektrum massa menunjukkan puncak ion molekul $[M+H]^+$ pada m/z 421 (Gambar 4.18). Puncak m/z 249 menunjukkan pemutusan fragmen metoksi. Pemutusan salah satu fragmen karboksil menunjukkan puncak pada m/z 403.



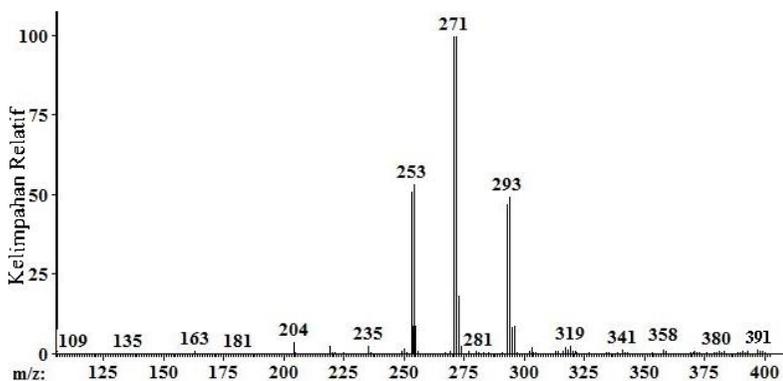
Analisa fragmen spektrum massa tersebut diperkirakan senyawa PA(17:2(9Z,12Z)/0:0) (33) dengan rumus molekul $C_{20}H_{37}O_7P$.

4.4.6 Fraksi 6

Identifikasi TIC fraksi 6 menunjukkan adanya komponen senyawa asam fosfatidoat (PA) (Gambar 4.19).

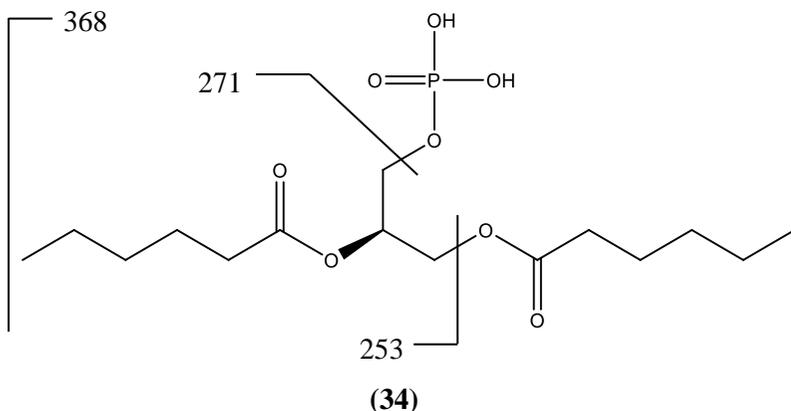


Gambar 4.18 Kromatogram ion total fraksi 6



Gambar 4.19 Spektrum massa PA(6:0/6:0)

Analisa spektrum massa (Gambar 4.20) dari puncak dengan intensitas paling tinggi pada TIC menunjukkan ion molekul $[M+Na]^+$ pada m/z 391. Puncak dasar pada m/z 271 menunjukkan lepasnya gugus fosfat dan pemutusan salah satu fragmen karboksil menunjukkan puncak pada m/z 253.



Merujuk Kind, dkk., 2013, analisa fragmen spektrum massa tersebut diperkirakan senyawa PA(6:0/6:0) **(34)** dengan rumus molekul $C_{15}H_{29}O_8P$. Kandungan senyawa PA dalam fraksi 6 bervariasi pada jumlah atom karbon pada rantai alifatik dari gugus induk senyawa PA.

Hasil identifikasi spektrum massa dari TIC 6 fraksi makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dari perairan pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur yang diperoleh menunjukkan kandungan senyawa yang berbeda dari ekstrak makroalga sejenis dari berbagai wilayah perairan lain seperti yang dilaporkan Akiyama, dkk., 2009; Bugni, dkk., 2001; Lo, dkk., 2001; Tan, dkk., 2000. Hal ini diperkirakan adanya pengaruh dari metode pemisahan senyawa-senyawa lipid dari ekstrak dengan berbagai tingkat kepolaran yang menggunakan HPLC dengan fase terbalik (*reverse phase*) dan fase biasa (*normal phase*).

4.5 Lipid Sebagai Senyawa Biomarka

Asam lemak merupakan penyusun utama sebagian besar lipid. Beberapa asam lemak berasal dari sumber yang telah diketahui pasti. Hal ini menjadikan asam lemak salah satu senyawa biomarka yang baik (Nyssen, dkk., 2005). Profil kandungan asam lemak dalam alga tidak bergantung pada letak geografis dan dapat diklasifikasikan berdasarkan tinjauan kemotaksonomi (Berge dan

Barnathan, 2005). Hasil identifikasi kandungan ekstrak metanol makroalga *Ceratodictyon spongiosum* mengandung senyawa asam arakhidonoat (**1**) yang merupakan PUFA 20:4(n-6). Keberadaan senyawa PUFA 20:4(n-6) dapat menjadi pembeda kandungan bahan organik yang cukup jelas antara 3 filum utama makroalga. Berdasarkan tinjauan kemotaksonomi, Rhodophyta kaya dengan PUFA 20:4(n-6) dan 20:5(n-3), Phaeophyta 20:5(n-3) dan 18:4(n-3), sedangkan Chlorophyta dominan dengan 18:3(n-3) (Graeve, dkk., 2002). Selain itu, senyawa PUFA kelompok (n-6) lebih umum ditemukan pada makroalga daripada mikroalga (Dalsgaard, dkk., 2003). Kandungan ekstrak yang lain adalah beberapa senyawa fosfolipid yaitu PA, PE, PC dan terdapat pula senyawa glikolipid yaitu DGDG. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa lipid yang cukup dominan terkandung dalam ekstrak organisme alga secara umum (Berge dan Barnathan, 2005; Graeve, dkk., 2002; Kumari, dkk., 2013).

Kemampuan antimikroba ekstrak makroalga bergantung pada spesies dan efisiensi ekstraksi (Lima-Filho, dkk., 2002). Ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* diketahui bersifat aktif terhadap bakteri gram negatif maupun positif. Keberadaan beberapa senyawa sebagai senyawa biomarka organisme makroalga dalam ekstrak metanol mendukung sebagai penanda antimikroba senyawa bahan organik makroalga tersebut. Senyawa biomarka tersebut tentunya menjadi senyawa biomarka bagi makroalga *Ceratodictyon spongiosum* di perairan dengan karakteristik yang sama.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Fraksi n-heksana ekstrak metanol makroalga *Ceratodictyon spongiosum* aktif sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif *E. coli* dan bakteri gram positif *S. aureus*. Hal ini menandakan bahwa senyawa isolat dalam ekstrak metanol memiliki komponen kimia dengan sifat bioaktif, salah satunya adalah senyawa PUFA.

Identifikasi ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* menunjukkan beberapa komponen kimia berupa senyawa lipid, yaitu kelompok fosfolipid, glikolipid, serta PUFA. Senyawa fosfolipid yang teridentifikasi adalah asam fosfatidoat (PA), fosfatidilkolin (PC), dan fosfatidiletanolamina (PE). Senyawa glikolipid yang ditemukan adalah digalaktosildiasilgliserol (DGDG). Senyawa PUFA diidentifikasi sebagai asam arakhidonoat (**1**). Senyawa fosfolipid dan glikolipid merupakan komponen lipid yang dominan dalam ekstrak makroalga secara umum. Senyawa (**1**) merupakan senyawa khas dari makroalga filum Rhodophyta yang dapat menjadi pembeda dengan 3 filum yang lainnya, serta terkandung dominan pada makroalga daripada mikroalga.

Kemampuan bioaktivitas dan adanya senyawa PUFA dalam ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dari perairan pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur menunjukkan bahwa senyawa (**1**) dapat digunakan sebagai biomarka bioaktivitas bahan organik makroalga tersebut.

5.2 Saran

Penelitian mengenai senyawa ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* perlu dilanjutkan, khususnya senyawa-senyawa dari ekstrak pelarut non polar.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama T., Ueoka R., van Soest R. W. M. and Matsunaga S. (2009) Ceratodictyols, 1-Glyceryl Ethers from the Red Alga-Sponge Association Ceratodictyon spongiosum/Haliclona cymaeformis. *J. Nat. Prod.* **72**, 1552–1554.
- Anon (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* **69**, 89–95.
- Aronson J. K. (2005) Biomarkers and surrogate endpoints. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **59**, 491–494.
- Batthey J. F. and Patton J. S. (1984) A Reevaluation of the Role of Glycerol in Carbon Translocation in Zooxanthellae-Coelentrates Symbiosis. *Mar. Biol.* **79**, 27–38.
- Berge J.-P. and Barnathan G. (2005) Fatty Acids from Lipids of Marine Organisms: Molekuler Biodiversity, Role as Biomarkers, Biologically Active Compounds, and Economical Aspects. *Mar. Biotechnol.* **96**, 49–125.
- Bligh E. G. and Dyer W. J. (1959) A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911–917.
- Brooks G. F. and Jawetz E. (2013) *Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology*. 26. ed., McGraw-Hill Medical, New York.
- Bugni T. S., Concepcion G. P., Mangalindan G. C., Harper M. K., James R. D. and Ireland C. M. (2002) p-Sulfoxyphenylpyruvic acid from the red macro alga

Ceratodictyon spongiosum and its sponge symbiont Haliclona cymaeformis. *Phytochemistry* **60**, 361–363.

Cajka T. and Fiehn O. (2014) Comprehensive analysis of lipids in biological systems by liquid chromatography-mass spectrometry. *Trends Anal. Chem.* **61**, 192–206.

Christie W. W. (2013) Mass Spectra Of Methyl Esters of Fatty Acids: Part 6 Tetra, Penta- and Hexaenoic Fatty Acid. *AOCS Lipid Libr.*, 1–8.

Dalsgaard J., John M. S., Kattner G., Muller-Navarra D. and Hagen W. (2003) Fatty acid markers in the pelagic marine environment. *Adv. Mar. Biol.* **46**, 225–340.

Davies P. S. (1991) Effect of Daylight Variations on the Energy Budgets of Shallow-Water Corals. *Mar. Biol.* **108**, 137–144.

Fleurence J., Gutbier G., Mabeau S. and Leray C. (1994) Fatty acids from 11 marine macroalgae of the French Brittany coast. *J. Appl. Phcology* **6**, 527–532.

Graeve M., Kattner G., Wiencke C. and Karsten U. (2002) Fatty acid composition of Artic and Antartic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationship. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **231**, 67–74.

Jha R. K. and Zi-rong X. (2004) Biomedical Compounds from Marine Organism. *Mar. Drugs* **2**, 123–146.

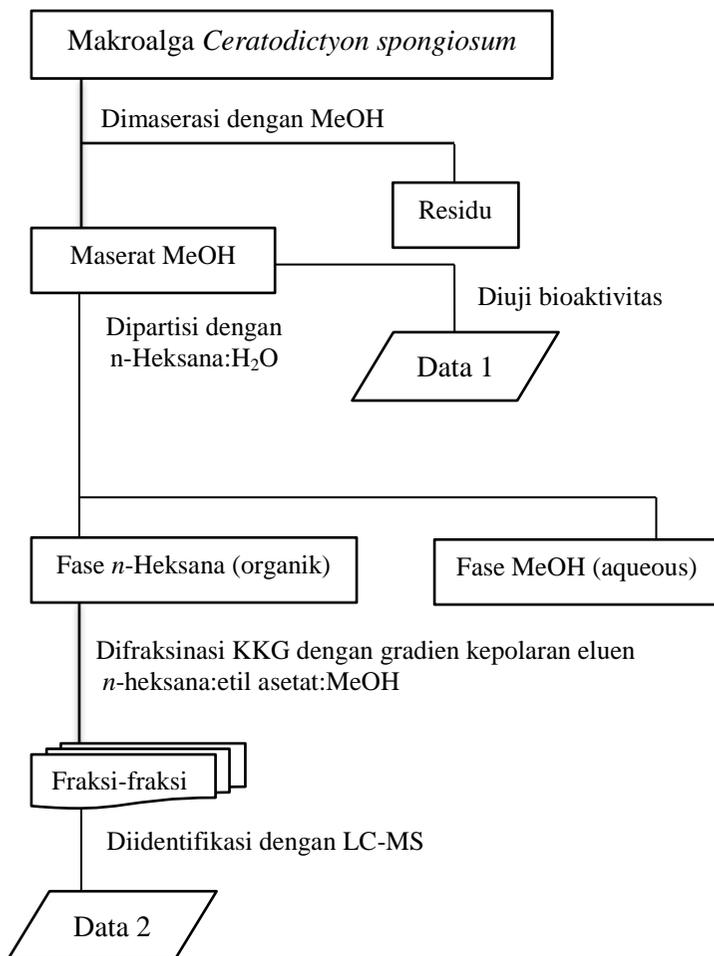
Kind T., Liu K.-H., Lee D. Y., DeFelice B., Meissen J. K. and Fiehn O. (2013) LipidBlast in silico tandem mass spectrometry database for lipid identification. *Nat. Methods* **10**, 755–758.

- Kind T., Okazaki Y., Saito K. and Fiehn O. (2014) LipidBlast Templates As Flexible Tools For Creating New in-Silico Tandem Mass Spectral Libraries. *Anal. Chem.*, A–D.
- Kristanti A. N., Aminah N. S., Tanjung M. and Kurniadi B. (2008) *Buku Ajar Fitokimia.*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Kumari P., Kumar M., Reddy C. R. K. and Jha B. (2013) Algal lipids, fatty acids and sterols. In *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals* Elsevier. pp. 87–134.
- Kumari P., Reddy C. R. K. and Jha B. (2011) Comparative evaluation and selection of a method for lipid and fatty acid extraction from macroalgae. *Anal. Biochem.* **415**, 134–144.
- Lima-Filho J. V. M., Carvalho A. F. F. U., Freitas S. M. and Melo V. M. M. (2002) Antibacterial Activity of Extracts of Six Macroalgae From the Northeastern Brazilian Coast. *Braz. J. Microbiol.* **33**, 311–313.
- Lipton A. P., Pramitha V. S. and Jose J. J. (2009) Marine Secondary Metabolites (MSM) from Macro Algae Enhance Bacterial Clearance in Hemolymph of *Penaeus monodon*. *Isr. J. Aquac.* **61**, 42–47.
- Lo J.-M., Wang W.-L., Chiang Y.-M. and Chen C.-M. (2001) Ceramides from the Tai wan Red Alga *Ceratodictyon spongiosum* and Symbiotic Sponge *Sigmadocia symbiotica*. *J. Chin. Chem. Soc.* **48**, 821–826.
- Millar A. (2009) Macroalgae. *primefacts Primefacts X*.

- Nyssen F., Brey T., Dauby P. and Graeve M. (2005) Trophic position of Antarctic amphipods - enhanced analysis by a 2-dimensional biomarker assay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **300**, 135–143.
- Parrish C. C., Abrajano T. A., Budge S. M., Helleur R. J., Hudson E. D., Pulchan K. and Ramos C. (2000) Lipid and Phenolic Biomarkers in Marine Ecosystems: Analysis and Applications. *Handb. Environmental Chem.* **5**, 193–223.
- Peters K. E., Walters C. C. and Moldowan J. M. (2005) *The Biomarker Guide: I. Biomarkers and Isotopes in the Environment and Human History.*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Price I. R., Fricker R. L. and Wilkinson C. R. (1984) Ceratodictyon Spongiosum (Rhodophyta), the Macroalgal Partner in An Algal-Sponge Symbiosis, Grown in Unialgal Culture. *J Phycol* **20**, 156–158.
- Price I. R. and Kraft G. T. (1991) Reproductive development and classification of the red algal genus Ceratodictyon Rhodymeniales, Rhodophyta). *Phycologia* **30**, 106–116.
- Skoog D. A., West D. M., Holler F. J. and Crouch S. R. (2004) *Fundamental of Analytical Chemistry*. 8th ed., Thomson Brooks/Cole, Toronto.
- Tan L. T., Williamson R. T., Gerwick W. H., Watts K. S., McGough K. and Jacobs R. (2000) cis,cis- dan trans,trans-Ceratospongamide, New Bioactive Cyclic Heptapeptides from the Indonesian Red Alga Ceratodictyon spongiosum and Symbiotic Sponge Sigmadocia symbiotica. *J. Org. Chem.* **65**, 419–425.

LAMPIRAN

A. SKEMA KERJA



B. IDENTIFIKASI SAMPEL MAKROALGA



LABORATORIUM EKOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Gedung H Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111
Telp: 031-5963857
Fax : 031-5963857

HASIL PENGAMATAN SAMPEL MARINE BENTHIC LIFEFORM

Sampel 1

Identitas sampel

Nama sampel : 007-BLF-SPOT/0914
Pengirim : Sdr. Randi (Jurusan Kimia FMIPA ITS)
Metode pengamatan sampel : Identifikasi morfologi (mikroskopis)

Observer

: Iwenda Bella Subagio, S.Si

Supervisor

: Farid K. Muzaki, S.Si, M.Si

Tabel 1. Hasil Identifikasi Benthic Lifeform

Sampel	Group	Spesies	Famili
A1	Makroalga	<i>Ceratodictyon spongiosum</i> Zanardini, 1878	Lomentariaceae
A2	Spons laut	<i>Haliciona (Gellius) cymaeiformis</i> (Esper, 1794)	Chalinidae
A3	Spons laut	<i>Halichondria</i> sp Fleming, 1828	Halichondridae
B1	Soft coral	<i>Sarcophyton crassocaule</i> Moser, 1919	Alcyoniidae
B2	Soft coral	<i>Sarcophyton</i> sp Lesson, 1834	Alcyoniidae
B3	Soft coral	<i>Simularia</i> sp May, 1898	Alcyoniidae
B4	Soft coral	<i>Simularia densa</i> (Whitelegge, 1897)	Alcyoniidae

Keterangan:

Identifikasi dan klasifikasi berdasarkan literatur berikut:
Colin, P.L., and C. Arneson. 1995. *Tropical Pacific invertebrates*. California: Coral Reef Press.
Hooper, J.N.A. 2000. *Spongicide: guide to sponge collection and identification*. Queensland: Queensland Museum.
Hooper, J.N.A., and W.M. Van Soest (Ed.). 2002. *Systema Porifera: a guide to the classification of sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Surabaya, Oktober 2014
Kepala Laboratorium Ekologi
Prodi Biologi FMIPA-ITS



C. PERHITUNGAN

1. Perhitungan ekstrak pekat metanol

$$\begin{aligned} \text{ekstrak pekat metanol} &= \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa sampel awal}} \times 100\% \\ &= \frac{88,9857 \text{ g}}{200,5676 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 44,34\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan ekstrak pekat kloroform

$$\begin{aligned} \text{ekstrak pekat kloroform} &= \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa sampel awal}} \times 100\% \\ &= \frac{27,4804}{200,5676} \times 100\% \\ &= 13,69\% \end{aligned}$$

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



KARABEN IKHTIYANA IKRARI, lahir di Jombang, 26 November 1993. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal di SDN Pare IV, SMPN 2 Pare, dan SMAN 2 Pare, Kediri. Setelah lulus dari SMA tahun 2011, penulis lolos Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri jalur ujian tulis dan diterima di Jurusan Kimia FMIPA-ITS, Surabaya dengan NRP 1411100075, selanjutnya penulis mengambil bidang riset geokimia organik di laboratorium Geokimia Molekuler.

Penulis bersertifikasi Keselamatan dan Keamanan Kimia (*Chemical Safety and Security*) di Laboratorium oleh LIPI dan memiliki pengalaman kerja sebagai asisten dosen dalam praktikum kimia organik. Penulis berkesempatan menjadi pemakalah dalam Seminar Nasional Kimia UGM 2015 di Yogyakarta dengan publikasi jurnal ilmiah nasional (ISSN 2338-2368). Penulis dapat dihubungi melalui *e-mail* theikrari@gmail.com.