

repository.ub.ac.id

**Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak *Sponge Thorectidaesp.*
dan Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang *Artemia salina*
*Leach***

SKRIPSI

Oleh :

**Izzati Amalia Ahmada
155090207111002**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

**Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak *Sponge Thorectidaesp.*
dan Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang *Artemia salina*
*Leach.***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Sains dalam bidang kimia

Oleh :

Izzati Amalia Ahmada

155090207111002



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak *Sponge Thorectidae sp.*
dan Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang *Artemia salina*
Leach

Oleh:

Izzati Amalia Ahmada
155090207111002

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal **24 JUN 2019**
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains dalam bidang kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Farid Rahman, S. Si., M.

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D

NIP. 197007201997021001

NIP. 197310202002121001



Mengertahi Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D NIP.

197310202002121001

LEMBAR PERNYATAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Izzati Amalia Ahmada

NIM : 155090207111002

Jurusan : Kimia

Penulis Skripsi berjudul :

**Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak *Sponge Thorectidae sp.*
dan Uji Toksisitasnya terhadap *Artemia salina Leach.***


Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dan Skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain orang-orang yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam Skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata Skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,



(Izzati Amalia Ahmada)

155090207111002

repository.ub.ac.id

Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak Sponge *Thorectidaesp.* dan Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak *sponge* dengan pelarut n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan metanol dari famili *Thorectidae sp.* terhadap *Artemia salina* Leach dan mengetahui senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak pelarut yang memberikan tingkat toksisitas yang tinggi berdasarkan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan bantuan ultrasonik, kemudian ekstrak kasar dilakukan identifikasi menggunakan LC-MS/MS, Spektrofotometer UV-Vis, dan Spektrofotometer FT-IR. Sedangkan uji toksisitas dilakukan dengan metode Meyer yaitu BSLT (*Brine Shrimp Lethally Test*). Hasil toksisitas menunjukkan ekstrak n-butanol memiliki tingkat toksisitas paling tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 58. 657 ppm. Hasil identifikasi diperoleh senyawa dengan toksisitas yang tinggi pada ekstrak *sponge* n-butanol yaitu **L-Asam Glutamat – etil-N-2-dodekanoil-L-argininat (1:1); dan 8-Etil-3,3-dimetil-6-{4-[(4-metil-1-piperazinil)asetil]-1-piperazinil}-3,4-dihidro-1H-pirano[3,4-c]piridin-5-karbonitril**. Pada ekstrak n-heksana yaitu **2-(Alilsulfanil)-3-(4-metoksifenil)-3H-spiro[benzo[h]quinazolin-5,1'-siklopentan]-4(6H)-on; dan N,N-Disikloheksil-N,N-bis{[(2-metil-2-propanil)oksi]karbonil}-D-lisinamida**. Diketahui pada kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa yang sama yaitu 2-Benzofuran-1,3-dion.

Kata kunci: *Sponge*, LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, Spektrofotometer.

repository.ub.ac.id

**The Identification of Composing Compounds *Thorectidae* sp.
Sponge Extract and Its Toxicity Test toward Shrimp Larva
Artemia salina Leach.**

ABSTRACT

This study aims to identify the toxicity level of *sponge* extract with n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, and methanol to *Artemia salina* Leach and determine the composing compounds of *sponge* extract with the highest toxicity. The extraction method was carried out by maceration using ultrasonic aid, continually the crude extract was identified using LC-MS/MS, UV-Vis Spectrophotometer, and FT-IR Spectrophotometer. Meanwhile, the toxicity test was done through Meyer method namely BSLT (*Brine Shrimp Lethally Test*). The toxicity results show n-butanol extract has the highest toxicity level with an LC50 value of 58.657 ppm. The identification results obtained the highest toxicity level of the compounds on n-butanol *sponge* extract namely **L-Glutamic acid – Ethyl-N-2-dodecanoyl-L-argininate (1:1); and 8-Ethyl-3,3-dimethyl-6-{4-[(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl]-1-piperazinyl}-3,4-dihydro-1H-pirano[3,4c]piridine -5-carbonitrile**. On n-hexane *sponge* extracts were obtained the compounds namely **2-(Allylsulphanyl)-3-(4-methoxyphenyl)-3H-spiro[benzo[h]quinazolin-5,1'-cyclopentane]-4(6H)-on; and N,N-Dicyclohexyl-N,N-bis{[(2-methyl-2-propanyl)oxy] carbonyl}-D-lisinamide**. It's known the both extract contain the same compound, 2-Benzofuran-1,3-dione.

Keywords: *Sponge*, LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, Spectrophotometer.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul **Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak *SpongeThorectidae sp.* dan Uji Toksisitasnya terhadap *Artemia salina Leach.*** dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia di Universitas Brawijaya Malang. Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terimakasih ditujukan kepada :

1. B
apak Moh. Farid Rahman, S.Si., M.Si, selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan saran, ilmu dan perhatian serta bimbingan dalam penyusunan skripsi.
2. B
apak Masruri, S.Si.,M.Si.,Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia, pembimbing akademik, dan pembimbing I yang telah memberikan saran, ilmu dan perhatian serta bimbingan dalam penyusunan skripsi.
3. O
rang tua penulis, Bapak (Izuddin) dan Ibu (Umi Musyarofah), Kakak penulis (M. Wildanul Qowim Musyafa') dan adikpenulis (Aisyah Niswatus Syarifah) atas kasih sayang, doa serta bantuan secara moril dan materil.
4. S
ahabat penulis, Chyntia Ayu Maulina, Naomi Indira Prada P, Sri Agustina Setyorini., Tabita Chikaatesa, Tien Yulfiana, Laras Pangesti serta seluruh anggota kimia 2015 dan rekan penulis tim PKL, Larasati Prabowo, dan Novia Rina S serta rekan penelitian Alya Farrah Diba.
5. T
eman baik penulis, M. Khabib Fahrudin, kak Hilda, kak Inayatul Laily yang selalu ada untuk menemani penulis dalam proses penulisan naskah.

6.

T

eman kos penulis, Putri Ayu K dan Rizka Faridatul Aziah serta seluruh saudara-saudari yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa Laporan Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik yang bersifat membangun dari pembaca sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan pada masa yang akan datang.

Akhir kata, semoga semua sumbangan ilmu, moril maupun material dari semua pihak merupakan amal sholeh yang akan di balas oleh Allah SWT, dan semoga Laporan Tugas Akhir ini berguna bagi semua pihak yang memanfaatkan.

Malang, Juni 2019
Penulis



DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PERNYATAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	Error! Bookmark not defined.
1.1. Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2. Rumusan Masalah	Error! Bookmark not defined.
1.3. Batasan Masalah	Error! Bookmark not defined.
1.4. Tujuan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.5. Manfaat Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
2.1. Sponge.....	Error! Bookmark not defined.
2.2. Uji Toksisitas Senyawa Aktif terhadap Larva Udang <i>Artemia salina Leach</i>	Error! Bookmark not defined.
2.2.1. Morfologi Larva Udang <i>Artemia salina Leach</i>	Error! Bookmark not defined.
2.2.2. Uji Toksisitas terhadap Larva Udang <i>Artemia salina Leach</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3. <i>Liquid Chromatography-Mass Spectra</i> (LC-MS/MS) ...	Error! Bookmark not defined.
2.4. Spektrofotometer UV-Vis	Error! Bookmark not defined.
2.5. Spektrofotometer <i>Fourier Transform-Infra Red</i> (FT-IR)	Error! Bookmark not defined.
BAB III METODE PENELITIAN ...	Error! Bookmark not defined.
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
3.2.1. Alat	Error! Bookmark not defined.

- 3.2.2. Bahan..... **Error! Bookmark not defined.**
- 3.3. Tahapan Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4. Prosedur Penelitian **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.1. Preparasi sampel sponge menjadi serbuk**Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.2. Ekstraksi sponge menggunakan variasi pelarut dengan bantuan ultrasonik. **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.3. Uji toksisitas ekstrak sponge terhadap *Artemia salina Leach.* **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.3.1. Penetasan telur larva udang *Artemia salina Leach.*.....**Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.3.2. Preparasi larutan uji..... **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.3.3. Uji toksisitas larva udang terhadap LC₅₀**Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.4. Identifikasi produk ekstrak kasar sponge dengan spektrofotometer..... **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.5. Identifikasi senyawa penyusun produk ekstrak kasar sponge dengan LC-MS/MS. **Error! Bookmark not defined.**
- 3.4.6. Analisis Data **Error! Bookmark not defined.**
- BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN****Error! Bookmark not defined.**
- 4.1. Hasil Ekstraksi Sponge dengan variasi pelarut**Error! Bookmark not defined.**
- 4.2. Hasil Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina Leach.*.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.3. Analisis dengan Spektrofotometer**Error! Bookmark not defined.**
- 4.2.2 Spektrofotometer UV-Vis (*Ultraviolet-Visible*).....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.2.3 Spektrofotometer FT-IR **Error! Bookmark not defined.**
- 4.2.4 Hasil Analisis LC-MS/MS (*Liquid Chromatography Mass Spectra*) **Error! Bookmark not defined.**
- BAB V KESIMPULAN DAN SARAN****Error! Bookmark not defined.**
- 5.1. Kesimpulan **Error! Bookmark not defined.**

5.2. Saran **Error! Bookmark not defined.**
DAFTAR PUSTAKA..... **Error! Bookmark not defined.**
LAMPIRAN **Error! Bookmark not defined.**



DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2. 1 *Sponge* genus *Dictyoceratida* **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 1 Hasil spektrum FT-IR ekstrak *sponge* n-heksana .. **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 2 Hasil spektrum FT-IR ekstrak *sponge* etil asetat .. **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 3 Hasil spektrum FT-IR ekstrak *sponge* n-butanol .. **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 4 Hasil spektrum FT-IR ekstrak *sponge* metanol **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 5 Kromatogram LC-MS/MS Ekstrak n-butanol **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 6 Kromatogram LC-MS/MS Ekstrak n-heksana **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 7 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak *sponge* n-heksana **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 8 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak *sponge* etil asetat **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 9 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak *sponge* n-butanol **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar 4. 10 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak *sponge* metanol **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

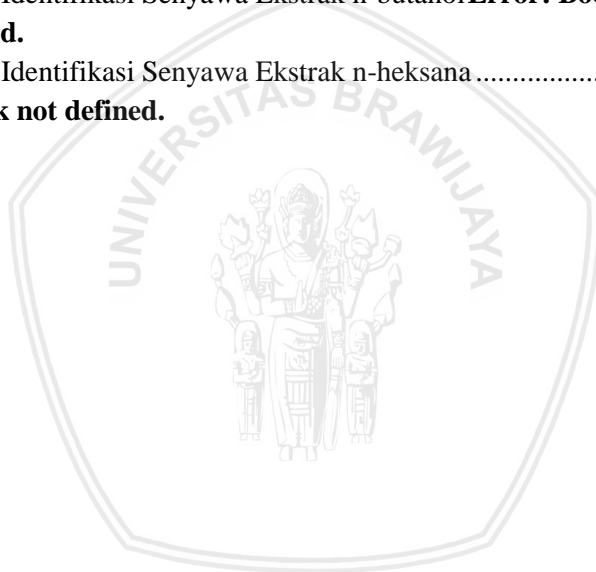
Tabel 2. 1Daerah serapan Infrared untuk ikatan.... **Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4. 1Hasil Rendemen EkstrakSponge.....**Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4. 2Panjang Gelombang Ekstrak *sponge***Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4. 3 Identifikasi Senyawa Ekstrak n-butanol**Error! Bookmark not defined.**

Tabel 4. 4 Identifikasi Senyawa Ekstrak n-heksana.....**Error! Bookmark not defined.**



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran A. Diagram Alir **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran A.1 Tahapan Penelitian **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran A. 2 Preparasi Sampel **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran A. 3 Ekstraksi Sponge dengan variasi pelarut.....**Error!
Bookmark not defined.**
- Lampiran A. 4 Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach...**Error!
Bookmark not defined.**
- Lampiran A. 4.1 Preparasi sampel ekstrak uji**Error! Bookmark not
defined.**
- Lampiran A. 4.2 Penetasan telur larva udang *Artemia salina* Leach. ...
..... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran A. 4.3 Pelaksanaan uji toksisitas**Error! Bookmark not
defined.**
- Lampiran B. Perhitungan..... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran B. 1. Persen rendemen ekstrak kasar sponge**Error!
Bookmark not defined.**
- Lampiran B. 2 Larutan Kotrol untuk Uji Toksisitas.....**Error!
Bookmark not defined.**
- Lampiran B. 3 Persiapan larutan uji untuk uji toksisitas**Error!
Bookmark not defined.**
- Lampiran C. Dokumentasi Penelitian**Error! Bookmark not defined.**
- Gambar C. 1 preparasi sampel..... **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar C. 2 proses ekstraksi **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar C. 3 proses evaporasi dan kultur *Artemia salina* Leach.
..... **Error! Bookmark not defined.**
- Gambar C. 4 hasil evaporasi (ekstrak kasar)**Error! Bookmark not
defined.**
- Lampiran D. Hasil Analisa LC-MS/MSE**Error! Bookmark not
defined.**
- Lampiran D. 1 Kromatogram Ekstrak Sponge n-butanol**Error!
Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 1. Waktu retensi(Rt)1.38**Error! Bookmark not
defined.**

- Lampiran D. 1. 2. Waktu retensi (Rt) 1.86**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 3. Waktu retensi (Rt) 3.01**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 4. Waktu retensi (Rt) 8.10**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 5. Waktu retensi (Rt) 8.92**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 6. Waktu retensi (Rt) 10.02**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 7. Waktu retensi (Rt) 10.58**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 8. Waktu retensi (Rt) 10.94**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 9. Waktu retensi (Rt) 11.61**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 10. Waktu retensi (Rt) 12.17**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 11. Waktu retensi (Rt) 12.78**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 12. Waktu retensi (Rt) 13.22**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 13. Waktu retensi (Rt) 13.72**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 14. Waktu retensi (Rt) 14.06**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 15. Waktu retensi (Rt) 14.81**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 16. Waktu retensi (Rt) 16.25**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 17. Waktu retensi (Rt) 16.85**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran D. 1. 18. Waktu retensi (Rt) 17.26**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 1. 19. Waktu retensi (Rt) 18.46**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2 Kromatogram Ekstrak Sponge n-heksana**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 1. Waktu retensi (Rt) 1.36**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 2. Waktu retensi (Rt) 9.84**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 3. Waktu retensi (Rt) 10.40**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 4. Waktu retensi (Rt) 10.87**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 5. Waktu retensi (Rt) 11.21**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 6. Waktu retensi (Rt) 11.57**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 7. Waktu retensi (Rt) 12.40**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 8. Waktu retensi (Rt) 12.76**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 9. Waktu retensi (Rt) 13.12**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 10. Waktu retensi (Rt) 13.62 **Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 11. Waktu retensi (Rt) 13.88**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 12. Waktu retensi (Rt) 14.48**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 13. Waktu retensi (Rt) 16.94**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 14. Waktu retensi (Rt) 18.13**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran D. 2. 15. Waktu retensi (Rt) 18.85**Error! Bookmark not defined.**

repository.ub.ac.id

**Identifikasi Senyawa Penyusun Ekstrak Sponge *Thorectidaesp.*
dan Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang *Artemia salina*
*Leach***

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak *sponge* dengan pelarut n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan metanol dari famili *Thorectidae sp.* terhadap *Artemia salina Leach* dan mengetahui senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak pelarut yang memberikan tingkat toksisitas yang tinggi berdasarkan uji toksisitas terhadap *Artemia salina Leach*. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan bantuan ultrasonik, kemudian ekstrak kasar dilakukan identifikasi menggunakan LC-MS/MS, Spektrofotometer UV-Vis, dan Spektrofotometer FT-IR. Sedangkan uji toksisitas dilakukan dengan metode Meyer yaitu BSLT (*Brine Shrimp Lethally Test*). Hasil toksisitas menunjukkan ekstrak n-butanol memiliki tingkat toksisitas paling tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 58. 657 ppm. Hasil identifikasi diperoleh senyawa dengan toksisitas yang tinggi pada ekstrak *sponge* n-butanol yaitu **L-Asam Glutamat – etil-N-2-dodekanoil-L-argininat (1:1); dan 8-Etil-3,3-dimetil-6-{4-[(4-metil-1-piperazinil)asetil]-1-piperazinil}-3,4-dihidro-1H-pirano[3,4-c]piridin-5-karbonitril**. Pada ekstrak n-heksana yaitu **2-(Alilsulfanil)-3-(4-metoksifenil)-3H-spiro[benzo[h]quinazolin-5,1'-siklopentan]-4(6H)-on; dan N,N-Disikloheksil-N,N-bis{[(2-metil-2-propanil)oksi]karbonil}-D-lisinamida**. Diketahui pada kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa yang sama yaitu 2-Benzofuran-1,3-dion.

Kata kunci: *Sponge*, LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, Spektrofotometer.

repository.ub.ac.id

**The Identification of Composing Compounds *Thorectidae* sp.
Sponge Extract and Its Toxicity Test toward Shrimp Larva
Artemia salina Leach.**

ABSTRACT

This study aims to identify the toxicity level of *sponge* extract with n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, and methanol to *Artemia salina* Leach and determine the composing compounds of *sponge* extract with the highest toxicity. The extraction method was carried out by maceration using ultrasonic aid, continually the crude extract was identified using LC-MS/MS, UV-Vis Spectrophotometer, and FT-IR Spectrophotometer. Meanwhile, the toxicity test was done through Meyer method namely BSLT (*Brine Shrimp Lethally Test*). The toxicity results show n-butanol extract has the highest toxicity level with an LC50 value of 58.657 ppm. The identification results obtained the highest toxicity level of the compounds on n-butanol *sponge* extract namely **L-Glutamic acid – Ethyl-N-2-dodecanoyl-L-argininate (1:1); and 8-Ethyl-3,3-dimethyl-6-{4-[(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl]-1-piperazinyl}-3,4-dihydro-1H-pirano[3,4c]pyridine -5-carbonitrile**. On n-hexane *sponge* extracts were obtained the compounds namely **2-(Allylsulphanyl)-3-(4-methoxyphenyl)-3H-spiro[benzo[h]quinazolin-5,1'-cyclopentane]-4(6H)-on;** and **N,N-Dicyclohexyl-N,N-bis{(2-methyl-2-propanyl)oxy} carbonyl}-D-lisinamide**. It's known the both extract contain the same compound, 2-Benzofuran-1,3-dione.

Keywords: *Sponge*, LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, Spectrophotometer.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Laut merupakan salah satu sumber daya alam dengan keanekaragaman hayati baik secara biologi maupun kimiawi seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme [1]. Produk alami yang berasal dari laut memiliki peran penting dalam penelitian biomedis terutama pada penemuan struktur utama atau sintesis obat [2]. Penemuan Bergmann pada nukleosida, spongotimidin dan spongoridin dalam sponge laut berperan penting perkembangan penelitian kesehatan tentang molekul bioaktif yang berasal dari laut. Sponge laut memiliki prospek penting dalam bidang farmasi karena mengandung senyawa aktif sebagai penyusun utama yang masih belum diproduksi secara masal [3]. Senyawa metabolit sekunder baru penting dalam perkembangan obat, sebagian besar senyawa metabolit sekunder terbukti dapat mengobati berbagai macam penyakit. Sehingga sangat membantu meringankan pengobatan dibidang medis [4]. Sponge laut didunia yang telah diketahui terdapat 5000 spesies, penelitian ini juga melibatkan berbagai bidang penelitian seperti biokimia, ekologi, kimia organik, dan farmakologi [5]. Penelitian terbaru yang sedang dipelajari yaitu senyawa sitotoksik dari sponge laut [6]. Studi tentang produk alami senyawa bioaktif dari sponge yang diperoleh dari segitiga batu karang Indonesia dikenal sebagai keanekaragaman hayati, menunjukkan potensi besar yang belum tereksplorasi [7]. Sponge laut memiliki kandungan senyawa bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa dari ekstrak tumbuhan. Senyawa bioaktif sponge laut ini adalah senyawa-senyawa baru yang berpotensi untuk menyembuhkan kanker, karena memiliki aktivitas farmakologi yaitu sifat toksik [8].

Berdasarkan latarbelakang diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder penyusun ekstrak sponge dan uji toksisitasnya. Sehingga dapat memperluas informasi ilmiah terkait kandungan senyawa aktif dari keanekaragam spesies sponge yang ada di Indonesia serta mengetahui sifat toksiknya, dimana sifat toksik ini diharapkan dapat berguna sebagai alternatif dalam penyembuhan pada sel kanker. Produk hasil ekstrak sponge dengan berbagai macam pelarut diuji toksisitasnya dengan

metode *Brine Shrimp Lethally Test* yang dapat sebagai dasar untuk mengetahui tingkat toksisitas senyawa produk penyusun ekstrak sponge dalam sel kanker. Sedangkan identifikasi senyawa penyusun ekstrak sponge dilakukan dengan bantuan LC-MS/MS, UV-Vis dan FT-IR untuk mengetahui kandungan senyawa penyusun ekstrak sponge berdasarkan berat molekul, panjang gelombang dan gugus fungsinya yang merupakan salahsatu senyawa metabolit sekunder.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah tingkat toksisitas senyawa ekstrak sponge n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan metanol dari famili *Thorectidae sp.* terhadap *Artemia salina Leach*?
2. Senyawa - senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak pelarut yang memberikan tingkat toksisitas yang tinggi berdasarkan uji toksisitas terhadap *Artemia salina Leach*?

1.3. Batasan Masalah

1. Bahan dasar yang digunakan adalah sponge *Thorectidae sp.* yang diambil dari pulau Kangean.
2. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi yaitu n-heksana, n-butanol, etil asetat, dan metanol.
3. Hewan yang digunakan dalam uji toksisitas yaitu *Artemia salina Leach*.
4. Identifikasi senyawa penyusun ekstrak sponge dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FT-IR dan LC-MS/MS.

1.4. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui tingkat toksisitas senyawa ekstrak sponge n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan metanol dari famili *Thorectidae sp.* terhadap *Artemia salina Leach*.
2. Mengetahui senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak pelarut yang memberikan tingkat toksisitas yang tinggi berdasarkan uji toksisitas terhadap *Artemia salina Leach*.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang bahan aktif dalam sponge berguna sebagai obat yang dapat diperoleh secara alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sponge

Sponge merupakan hewan primitif yang hidup dalam ekosistem batu karang dan dapat bersaing dalam bertahan hidup dengan biota lain karena memiliki senyawa bioaktif metabolit sekunder sebagai anti-predator. Senyawa metabolit sekunder tersebut digunakan manusia dalam bidang kesehatan khususnya material utama untuk obat dan memiliki sifat bioaktif [9]. Hal ini telah terbukti lebih dari 600 senyawa bioaktif yang telah diisolasi dari biota dimana 40% berasal dari isolasi sponge laut [10]. Berikut contoh gambar sponge laut:



Gambar 2. 1 Sponge genus *Dictyoceratida*

Senyawa metabolit sekunder menunjukkan aktivitas tinggi diantaranya alkaloid, terpen dan poliasetat. Pada umumnya bioaktivitas senyawa ini berguna sebagai sitotoksik, antikanker, antitumor, antiviral, antibiotik, antifungal dan lainnya. Sponge memiliki dua lapisan struktur disebut epidermis dan endodermis. Epidermis terdiri dari jaringan epitel tipis (pinacocyte), sedangkan endodermis terdiri dari flagel yang berfungsi dalam pencernaan makanan pada sponge [11]. Semua biota laut mengandung senyawa bioaktif baik primer maupun sekunder. Senyawa bioaktif tersebut adalah hasil metabolit dalam mikroorganisme yang dipengaruhi oleh lingkungannya. Sehingga produk bioaktif setiap biota laut yang dihasilkan akan berbeda meskipun dengan spesies sama [12].

Sponge dikelompokkan menjadi tiga kelas besar yaitu *Calcarea* (5 order dan 24 famili); *Demospongiae* (15 order dan 92 famili); dan *Hexactinellida* (enam order dan 20 famili) [13]. Salah satu kelas *demospongia* order *Dictyoceratida* yaitu famili *Thorectidae* dimana terdiri dari dua sub-famili (*Thorectinae*, dan *Phillospongiinae*) 20% diantaranya telah diteliti oleh para ilmuwan dan diperoleh senyawa metabolit baru dari golongan terpenoid, alkaloid, makrolid, dan poliketida [14].

2.2. Uji Toksisitas Senyawa Aktif terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

2.2.1. Morfologi Larva Udang *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach atau *Brine Shrimp* merupakan zooplankton dan tergolong udang primitive. Nama *Artemia* diberikan untuk pertama kali oleh Shlosscer yang menemukannya di suatu danau asin pada tahun 1755. *Artemia* semula diberi nama *Cancer salina* oleh Linnaeus pada tahun 1778 melengkapi jasad renik ini menjadi *Artemia salina* Leach [15]. *Artemia salina* Leach termasuk *crustaceae* yang ukurannya mencapai 1-2 cm. dapat ditemukan pada air yang salinitasnya tinggi, seperti danau asin, air laut, tidak dapat hidup di air tawar. Daur hidup *Artemia salina* Leach membutuhkan waktu 25 hari (kristiani, dkk 2008). Penetasan telur *Artemia salina* Leach yang baik perlu memperhatikan beberapa factor yaitu: hidrasi dari kista-kista, aerasi, penyinaran, suhu, derajat keasaman (pH), dan kepadatan telur dalam media penetasan [16].

Telur *Artemia salina* Leach dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada suhu 23°C maka ia akan menetas dalam 1-2 hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk eksplorasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji. Respon tersebut dapat dilihat hanya berupa immobilisasi kedalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimaukkan sepuluh ekor hewan

uji, disertai dengan tabung kontrol. Imobilitas ini sudah dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *Artemia salina* Leach. Nilai LC₅₀ diperoleh dengan ekstrapolasi kurva [17].

Penetasan telur dilakukan dengan memasukkan telur *Artemia salina* Leach kedalam air laut sambil diaerasi untu mengontakkan dengan udara selama 24 jam. Proses penetasan *Artemia salina* Leach ada beberapa tahapan yaitu tahap hidrasi, pecahnya cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga telur yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya yaitu tahap pecahnya cangkang yang disusul dengan tahap pecahnya payung yang terjadi sbelum beberapa saat sebelum naupli (larva) keluar dari cangkang [18].

2.2.2. Uji Toksisitas terhadap Larva Udag *Artemia salina* Leach

Pada umumnya uji toksisitas menggunakan metode BSLT merupakan uji aktifitas yang sederhana, murah, cepat, dan dapat digunakan untuk skala kecil serta sebagai referensi untuk uji pada tingkat selanjutnya. Karena dapat mendeteksi aktivitas toksisitas dari ekstrak kasar [9]. Spesies uji toksisitas paling sering digunakan pada kelompok *crustaceae* yaitu *Artemia salina* Leach. *Artemia salina* Leach merupakan hewan uji yang efektif digunakan dalam menentukan toksisitas atau persen kematian dan dianggap sebagai alternatif uji in vivo pada tikus [19].

Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui kemampuan racun pada suatu molekul yang dapat menimbulkan kerusakan ketika masuk kedalam tubuh dan lokasi organ yang rentan terhadapnya [17]. Adanya korelasi positif antara metode BSLT dengan uji sitotoksik menggunakan kultur sel kanker sehingga metode ini sering dimanfaatkan untuk skrining senyawa antikanker [20]. Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Korelasi antara uji toksisitas akut ini dengan uji sitotoksik adalah jika

mortalitas atau jumlah kematian terhadap *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan memiliki harga LC50 < 1000 ppm. Tingkat toksisitas ditunjukkan pada **Tabel 2.1** [21].

Tabel 2. 1 Kategori toksisitas sampel

Kategori	LC ₅₀ (ppm)
Sangat toksik	<30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	>1000

BSLT (*Brine Shrimp Lethally Test*) merupakan pengujian senyawa secara umum yang dapat mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Korelasi positif ditemukan antara toksisitas BSLT dan sitotoksik untuk sel P-388 leukemia secara in vivo. Diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalarial, antimikroba, *immunosuppressive*, *antifeedant* dan residu pestisida [22]. Menurut Panjaitan (2011) *Artemia salina* memiliki keasaman tanggapan dengan mamalia seperti tipe DNA-dependent RNA polymerase (DNA yang mengarahkan proses transkripsi RNA). Hal ini menyebabkan senyawa atau ekstrak yang memiliki aktivitas pada system tersebut dapat dideteksi melalui metode ini [23]. Pengujian dilakukan pada ekstrak sampel dengan berbagai konsentrasi dan kontrol. Bila dalam larutan kontrol terdapat larva yang mati, maka jumlah larva udang sampel adalah jumlah larva udang pada tiap-tiap konsentrasi dikurangi jumlah larva pada larutan control [24]

% mortality (Kematian Larva) =

$$\frac{\text{Jumlah larva uji mati} - \text{jumlah larva kontrol mati}}{\text{Jumlah total larva uji}} \times 100\%$$

2.3. *Liquid Chromatography-Mass Spectra (LC-MS/MS)*

LC-MS/MS merupakan suatu metode yang digunakan untuk tingkat sensitifitas tinggi dan analisa yang cepat. Kombinasi teknologi LC-MS/MS memiliki keistimewaan untuk menganalisa struktur baik secara kualitatif maupun kuantitatif [25]. LC-MS/MS adalah analisa yang menggabungkan metode kromatografi cair

dengan sensor spektroskopi massa, dimana setelah sampel di injeksikan komponen-komponennya akan dipisahkan dan molekul yang bermuatan akan dideteksi oleh spektrometer massa. Data yang diperoleh berupa informasi terkait berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen dari sampel [26]. LC-MS/MS merupakan metode pendekatan baru dalam mengidentifikasi senyawa baru dari bahan alam melalui kemampuan pemisahan yang efisien dari HPLC dan karakterisasi struktural yang tepat oleh MS [27]. Identifikasi senyawa metabolit dari bahan alam membutuhkan alat dengan kecanggihan, informasi struktur luas, sensitivitas dan selektivitas yang tinggi. Penelitian produk alam menggunakan alat-alat baru untuk mencapai efisiensi pemisahan yang sangat baik dan memperoleh informasi spektroskopi MS dalam campuran sampel yang kompleks [28].

2.4. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah instrument yang terdiri dari sumber sinar UV (UltraViolet) dan *Visible* (sinar tampak), sel yang dipancarkan sinar dan selanjutnya sinar ditangkap oleh detektor berfungsi untuk mendeteksi banyak cahaya yang ditransmisikan melalui sel. Spektrofotometer UV-Vis juga dilengkapi dengan sistem komputer yang dapat mengolah data hasil deteksi untuk dibuat kurva kalibrasi dalam penentuan suatu sampel. Daerah sinar UV memiliki rentang panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar Vis berada pada daerah panjang gelombang 400-800 nm [29].

2.5. Spektrofotometer *Fourier Transform-Infra Red* (FT-IR)

FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan salah satu hasil kemajuan instrumentasi spektroskopi infrared yang dapat memberikan data informasi kimia suatu sampel berdasarkan struktur dan konformasi senyawanya [30]. Pancaran Infra Merah pada umumnya mengacu pada bagian spektro elektromagnetik yang terletak diantara daerah tertentu. Spektro infrared memiliki kekhasan sebuah molekul secara menyeluruh, gugus-gugus atom tertentu memberikan pita-pita pada serapan tertentu. Letak pita-pita di dalam

spektro infrared ditampilkan sebagai bilangan gelombang atau panjang gelombang [31].

Tabel 2. 2 Daerah serapan Infrared untuk ikatan [29]

Gugus Fungsi	Daerah serapan (cm^{-1})
C-H	sp^3 : 3000-2850 sp^2 : 3100-3000 Aromatis : 3150-3050 Trifenilfosfin : 3000-3060
C=C	1680-1600
C-O	1300-1100
C=O	Keton : 1725-1705 Asam Karboksilat : 1725-1700 Ester : 1750-1730
O-H	Alkohol : 3000-2500 Asam Karboksilat : 3600-3000
C-Br	500-600

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Instrumentasi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. Identifikasi taksonomi sponge dilakukan di Laboratorium Zoologi dan Rekayasa, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2019 hingga Mei 2019.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas (erlenmeyer 250 mL, corong gelas, gelas pengaduk, botol vial, gelas ukur 100 mL), sonikator, aluminium foil, botol sampel, pipet tetes, kuas, kertas saring, neraca, rotary evaporator IKA RV 10 digital, aerator, UV-Vis tipe Shimadzu 1600, FT-IR tipe Shimadzu 8400S, LC-MS/MS Xevo-2-QTOF.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sponge *Thorectidae*, n-heksan p.a, etil asetat p.a, n-butanol p.a, methanol p.a, etanol 96% teknis, DMSO, air laut, dan telur *Artemia salina Leach*.

3.3. Tahapan Penelitian

1. Preparasi sampel sponge.
2. Ekstraksi sponge menggunakan variasi pelarut dengan bantuan ultrasonik
3. Uji toksisitas ekstrak sponge terhadap *Artemia salina Leach*.
4. Identifikasi produk ekstrak kasar sponge dengan spektrofotometer UV-Vis, dan spektrofotometer FT-IR.
5. Identifikasi senyawa penyusun produk ekstrak kasar sponge dengan LC-MS/MS.
6. Analisis data..

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Preparasi sampel sponge menjadi serbuk

Sponge yang diambil dari pulau Kangean telah disimpan dalam freezer, kemudian dilakukan identifikasi penentuan spesies di Laboratorium Zoologi dan Rekayasa, Institute Sepuluh November, Surabaya. Sponge dibersihkan menggunakan ethanol 96%. Setelah bersih sponge dipotong-potong kecil, dikeringkan dalam ruangan (tidak terkena sinar matahari secara langsung) dan dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk. Sponge yang telah menjadi serbuk ditimbang menggunakan neraca, dibagi menjadi empat dan dimasukkan kedalam erlenmeyer.

3.4.2. Ekstraksi sponge menggunakan variasi pelarut dengan bantuan ultrasonik.

3.4.2.1. Pelarut n-heksana

Bubuk sponge yang telah ditimbang sebanyak 79 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan pelarut n-heksana sampai terendam sebanyak 160 mL. Erlenmeyer dimasukkan dalam sonikator, dilakukan ekstraksi selama satu jam. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, dan dilakukan uji toksisitasnya dengan *Artemia salina Leach*.

3.4.2.2. Pelarut etil asetat

Bubuk sponge ditimbang sebanyak 79 gram, dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan pelarut etil asetat sampai 160 mL. Erlenmeyer dimasukkan dalam sonikator, dilakukan ekstraksi selama satu jam. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, dan dilakukan uji toksisitasnya dengan *Artemia salina Leach*.

3.4.2.3. Pelarut n-butanol

Bubuk sponge ditimbang sebanyak 79 gram, dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan pelarut n-butanol sampai 160 mL. Erlenmeyer dimasukkan dalam

sonikator, dilakukan ekstraksi selama satu jam. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, dan dilakukan uji toksisitasnya dengan *Artemia salina Leach*.

3.4.2.4. Pelarut metanol

Bubuk sponge ditimbang sebanyak 79 gram, dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan pelarut metanol sampai 160 mL. Erlenmeyer dimasukkan dalam *sonikator*, dilakukan ekstraksi selama satu jam. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan LC-MS/MS, UV-Vis, FT-IR, dan dilakukan uji toksisitasnya dengan *Artemia salina Leach*.

3.4.3. Uji toksisitas ekstrak sponge terhadap *Artemia salina Leach*.

3.4.3.1. Penetasan telur larva udang *Artemia salina Leach*.

Telur larva udang *Artemia salina Leach*. ditimbang sebanyak 0,03 gram/ 1000 mL air laut). Kemudian dimasukkan kedalam air laut sebanyak satu liter pada aquarium. Aerator dipasang, selanjutnya dinyalakan selama 48 jam. Ditunggu sampai telur menetas dan larva udang siap digunakan untuk uji toksisitas senyawa ekstrak kasar sponge dengan metode BSLT.

3.4.3.2. Preparasi larutan uji

Ekstrak kasar sponge diencerkan sebagai larutan uji dengan konsentrasi sebesar 0; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 125; 150 ppm. Kemudian ditambahkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 1% dari total larutan dan dilakukan pengocokan hingga larutan homogen.

3.4.3.3. Uji toksisitas larva udang terhadap LC₅₀

Larutan uji sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan larva *Artemia salina Leach*. dipipet

sebanyak 25 ekor. Setelah 48 jam diamati banyak larva udang yang mati, selanjutnya dihitung persen kematian dan dibandingkan dengan nilai LC₅₀.

3.4.4. Identifikasi produk ekstrak kasar sponge dengan spektrofotometer

3.4.4.1. Spektrofotometer Ultraviolet-Visibel (UV-Vis)

Karakterisasi produk dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan baseline menggunakan pelarut pada panjang gelombang 200-800 nm. Ekstrak sponge yang telah dilarutkan dengan metanol diukur absorbansi dan panjang gelombang maksimumnya menggunakan UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm. Panjang gelombang maksimum didapatkan dari absorbansi yang memiliki nilai sekitar 1-2. Spesifikasi alat yang digunakan adalah UV-Vis tipe Shimadzu 1600 Series.

3.4.4.2. Spektrofotometer *Fourier Transform-Infra Red* (FT-IR)

Karakterisasi senyawa penyusun produk ekstrak kasar sponge menggunakan spektrofotometri IR yaitu pertama disiapkan pelet KBr. Kemudian ekstrak kasar sponge ditetaskan pada pelet KBr, lalu dimasukkan kedalam *sampel holder*. Selanjutnya pellet ini dimasukkan kedalam ruang sampel untuk dipancarkan sinar infrared dan dilakukan analisa oleh sistem komputer yang menghasilkan data berupa spektrum. Data tersebut dapat digunakan untuk memprediksi gugus-gugus fungsi yang terdapat dapat senyawa penyusun ekstrak sponge. Keterangan alat dari spektrofotometer FT-IR yang digunakan adalah:

Tipe alat	: Shimadzu 8400S
Interferometer	: Tipe Michelson
Sistem Optik	: Sinar tunggal
Sumber Infrared	: Keramik globular
S/N	: 2000:1
Medium sampel	: Pellet KBr

3.4.5. Identifikasi senyawa penyusun produk ekstrak kasar sponge dengan LC-MS/MS.

Penelitian ini menggunakan uji UPLC-MS/MS untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak sponge dengan toksisitas yang tinggi terhadap *Artemia salina* Leach. UPLC merupakan metode pemisahan dan identifikasi senyawa organik. Penggunaan instrument UPLC-MS/MS mampu mendeteksi senyawa lebih spesifik yakni berdasarkan berat molekul suatu senyawa serta waktu analisis yang singkat.

Analisis UPLC-MS/MS dilakukan di Badan Resense Kriminal Polri Pusat laboratorium Forensik Jakarta Timur dengan spesifikasi LC-MS/MS Chromatographic Separation yaitu LC system: *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC), LC Column: ACQUITY UPLC HSS C18 (1.8 μm 2.1 \times 100mm) (waters, USA), dengan *temperature*: 50°C (column), 25°C (*room*), laju alir: 0.2 mL/min *running* 23 menit dengan volume injeksi sebanyak 5 μL dengan fase gerak yaitu air dengan 5mM Amonium format dan asetonitril dengan 0.05% asam format. Spesifikasi UPLC-MS/MS (*Mass Spectrometry*) yaitu menggunakan system ES (*Electrospray ionization*), satuan *mass analysis range*: 50-1300 m/z, *Source temperature*: 100°C, *Desolvation temperature*: 350°C, *cone gas flow*: 0 L/hr, *Desolvation gas flow*: 793 L/hr, energy kolosi: 4 Volt dan *Rampt Colision energy*: 25-50 Volt (energy tinggi).

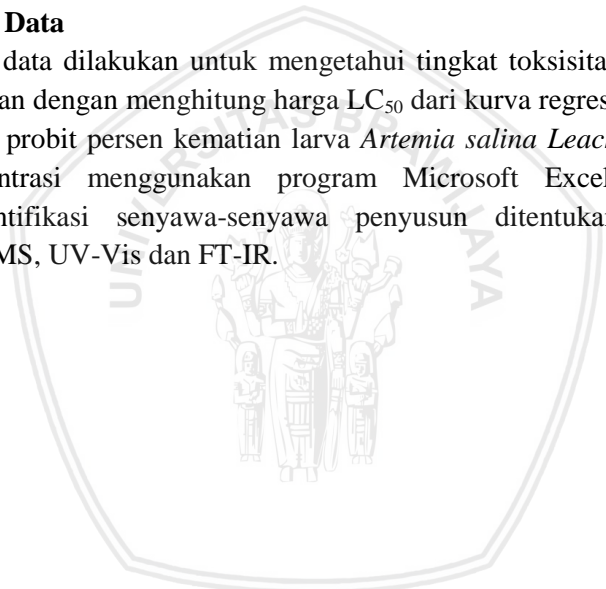
Pengujian UPLC-MS/MS dibutuhkan sampel yang dilarutkan dalam pelarutnya, kemudian diambil sebanyak 5 μL larutan dan disuntikkan pada instrument UPLC-MS/MS dengan laju alir 0.2 mL/menit. Kemudian dipompa selama 23 menit dan dimasukkan kedalam katup kolom *selector*. Selanjutnya dilakukan pemisahan, kemudian menuju UV detector dan berat molekul dideteksi dengan *Mass Spectrofotometer*.

repository.ub.ac.id

Setelah diperoleh hasil maka tahap selanjutnya adalah intepretasi data hasil pengujian UPLC-MS/MS. Dari hasil pengujian akan diperoleh grafik kromatogram yang akan dibaca menggunakan *software Masslynx 4.1* yang kemudian akan memunculkan puncak pada hasil kromatogram, dari puncak tersebut dapat diperoleh beberapa *monoisotopic mass*. *Monoisotopic mass* yang sudah muncul dari software dilakukan identifikasi dari web *chemspider*, *massbank* atau *pubchem* untuk mengetahui nama dan gugus kimia yang terdapat dalam sampel ekstrak sponge. Kemudian dibuat tabel data hasil intepretasi LC-MS/MS yang telah dilakukan.

3.4.6. Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas senyawa dilakukan dengan menghitung harga LC_{50} dari kurva regresi linear pada nilai probit persen kematian larva *Artemia salina Leach* terhadap konsentrasi menggunakan program Microsoft Excel. Sedangkan identifikasi senyawa-senyawa penyusun ditentukan dengan LC-MS/MS, UV-Vis dan FT-IR.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Ekstraksi Sponge dengan variasi pelarut

Preparasi sampel dilakukan dengan membersihkan sponge digunakan etanol 96% untuk menghilangkan pengotor yang ada pada sponge dan diperoleh sponge berwarna coklat kehitaman dengan aroma khas hewan laut sangat menyengat. Selanjutnya sponge dipotong-potong kecil untuk mempercepat proses pengeringan, proses pengeringan ini dilakukan pada suhu ruang untuk menghilangkan kadar air pada sponge. Kemudian sponge dihaluskan menggunakan blender untuk memudahkan dalam proses ekstraksi.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi dengan bantuan ultrasonik. Pemilihan cara maserasi dengan bantuan ultrasonik menurut penelitian Sayuti pada tahun 2017, bertujuan untuk memperoleh hasil yang tinggi dengan waktu yang relatif singkat untuk meminimalkan keterbatasan dalam metode ekstraksi konvensional. Sedangkan pelarut yang digunakan bervariasi berdasarkan sifat kepolarannya, pelarut yang digunakan diantaranya yaitu n-heksana, n-butanol, etil asetat, dan metanol. Sehingga senyawa yang terdistribusi bersifat non-polar akan terekstrak dalam n-heksana, sedangkan untuk senyawa aktif yang memiliki sifat semipolar akan terdistribusi dalam pelarut n-butanol dan etil asetat. Sebagian besar senyawa yang memiliki sifat polar akan terdistribusi dalam ekstrak metanol [32].

Selanjutnya dilakukan evaporasi dengan rotary evaporator bertujuan untuk menghilangkan pelarut dalam ekstrak sponge sehingga dapat diperoleh ekstrak kasarnya.

Tabel 4. 1 Hasil Rendemen Ekstrak Sponge

No.	Pelarut	Massa awal (g)	Massa ekstrak (g)	% rendemen
1.	Metanol	79	2.14	2.71
2.	Etil asetat	79	0.72	0.91
3.	n-butanol	79	0.66	0.84
4.	n-heksana	79	0.60	0.76

repository.ub.ac.id

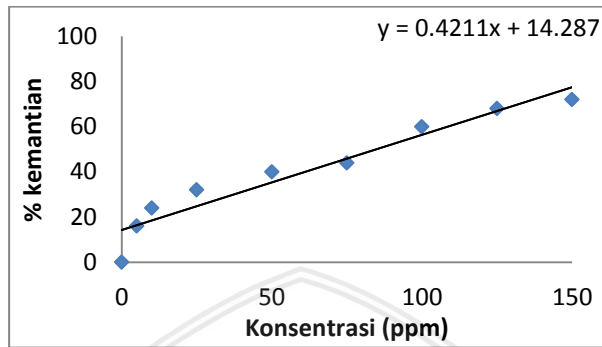
Setelah dilakukan penguapan pelarut pada ekstrak n-heksana diperoleh endapan berupa padatan kental berwarna coklat tua sebanyak 0,60 gram dengan rendemen ekstrak 0,76%. Pada ekstrak n-butanol diperoleh endapan berupa padatan kental berwarna coklat pekat sebanyak 0,66 gram dengan rendemen ekstrak 0,84 %. Pada ekstrak etil asetat diperoleh endapan berupa padatan kental berwarna coklat kehijauan sebanyak 0,72 gram dengan rendemen ekstrak 0,91 %. Pada ekstrak metanol diperoleh endapan berupa cairan pekat dan terdapat gumpalan serbuk berwarna hijau pekat sebanyak 2,14 gram dengan rendemen ekstrak 2,71%. Sehingga ekstrak sponge *Thorectidae* yang diperoleh dari penelitian ini memiliki hasil lebih rendah daripada jenis yang ada pada penelitian sebelumnya.

4.2. Hasil Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina Leach*.

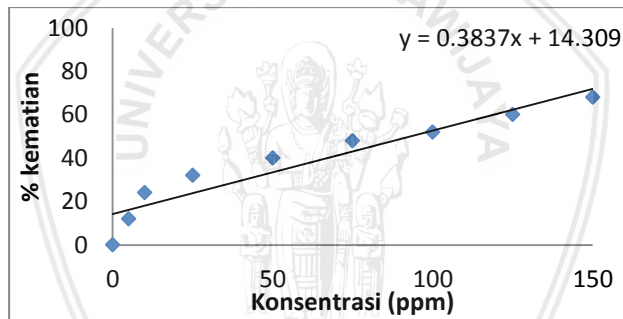
Uji toksisitas menggunakan *Artemia salina Leach*. merupakan salah satu cara untuk mengetahui sifat toksik suatu senyawa. Penentuan toksisitas dilakukan dengan menghitung nilai LC_{50} aktivitas senyawa terhadap *Artemia salina Leach*. Suatu senyawa dikatakan bersifat toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm [21] yaitu konsentrasi yaitu suatu senyawa dapat menyebabkan terjadinya 50% kematian hewan uji *Artemia salina Leach*.

Pengujian dilakukan pada ekstrak sponge n-heksana, ekstrak sponge etil asetat, ekstrak sponge n-butanol dan ekstrak sponge metanol. Masing-masing sampel uji dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 pm serta sebagai kontrolnya 0 ppm yaitu DMSO 1%. DMSO digunakan sebagai surfaktan yang memiliki ujung hidrofobik dan hidrofilik sehingga dapat melarutkan ekstrak sponge dalam air laut. DMSO memiliki struktur yang terdiri atas gugus S=O yang bersifat polar dan dua alkil (-CH₃) yang bersifat kurang polar. Gugus polar akan melarutkan air laut sedangkan gugus yang kurang polar akan melarutkan ekstrak sponge yang kurang polar. *Artemia salina Leach*. sebagai hewan uji dalam setiap konsentrasi masing-masing perlakuan dan setiap perlakuan dilakukan tiga kali ulangan dan nilai rata-rata kematian digunakan sebagai banyaknya

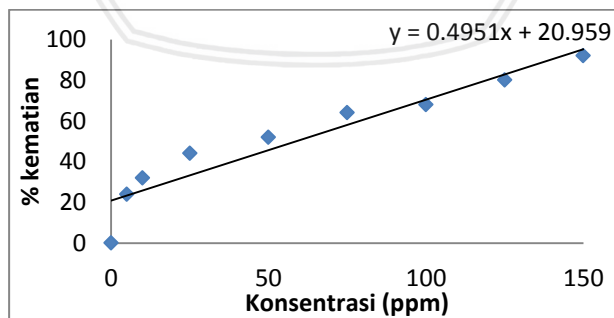
larva yang mati. Selanjutnya dihitung persen kematiannya sehingga dapat diperoleh grafik linier untuk mengetahui persamaan liniernya pada gambar berikut:



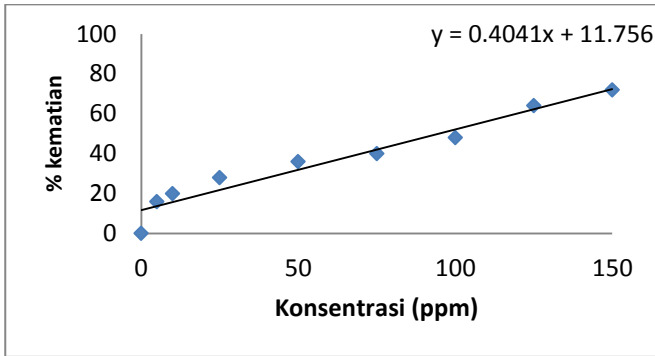
Gambar 4. 1 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak sponge n-heksana



Gambar 4. 2 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak sponge etil asetat



Gambar 4. 3 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak sponge n-butanol



Gambar 4.4 Grafik linier hasil toksisitas ekstrak sponge metanol

Berdasarkan gambar diatas diperoleh persamaan linier masing-masing ekstrak sebagai penentuan nilai LC_{50} . Pada ekstrak sponge n-heksana diperoleh persamaan $y = 0.4211x + 14.287$ dengan nilai LC_{50} 84.809 ppm. Pada ekstrak sponge etil asetat diperoleh persamaan $y = 0.3837x + 14.309$ dengan nilai LC_{50} 93.018 ppm. Pada ekstrak sponge n-butanol diperoleh persamaan $y = 0.4951x + 20.959$ dengan nilai LC_{50} 58.657 ppm. Pada ekstrak sponge metanol diperoleh persamaan $y = 0.4041x + 11.756$ dengan nilai LC_{50} 94.639 ppm.

Berdasarkan penentuan hasil uji toksisitas yang telah dilakukan terhadap ekstrak sponge n-heksana, etil asetat, n-butanol dan metanol, masing-masing diperoleh nilai LC_{50} dengan konsentrasi <1000. Sehingga pada penelitian ini dapat diketahui bahwa masing-masing ekstrak memiliki sifat toksik, dimana ekstrak n-butanol memiliki nilai LC_{50} lebih rendah diantara ekstrak yang lain. Maka dapat dikatakan ekstrak sponge dari n-butanol memiliki toksisitas yang lebih tinggi dengan nilai LC_{50} sebesar 58.657 ppm.

4.3. Analisis dengan Spektrofotometer

4.2.1 Spektrofotometer UV-Vis (*Ultraviolet-Visible*)

Spektrofotometer UV-Vis merupakan pengukuran jumlah radiasi UV-Vis yang diserap oleh senyawa sebagai fungsi panjang gelombang radiasi. Panjang gelombang serta intensitasnya ini

tergantung jenis ikatan dan gugus karakteristik dari molekulnya. Sampel yang berupa padatan ekstrak kasar sponge, masing-masing dilarutkan kedalam metanol kemudian dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan analisis yang telah dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh data pada **Tabel 4.2**

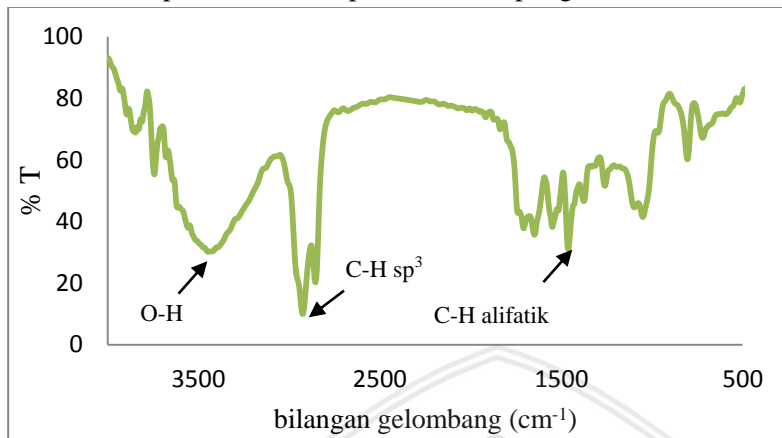
Tabel 4. 2 Panjang Gelombang Ekstrak Sponge

No.	Ekstrak Pelarut	λ maks. (nm)
1.	n-heksana	225.50
2.	etil asetat	225.00
3.	n-butanol	226.00
4.	Metanol	225.00

Spektrum UV (*Ultraviolet*) digunakan untuk mendeteksi adanya ikatan terkonjugasi pada suatu sampel. Pada umumnya molekul tanpa ikatan rangkap atau satu ikatan rangkap saja tidak menyerap pada daerah sinar tampak (*Visible*) yaitu panjang gelombang 400-800 nm. Namun demikian, sistem terkonjugasi menyerap dan semakin banyak konjugasi semakin panjang panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang maksimum pada hasil analisis yang terukur masing-masing sampel mulai dari ekstrak n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan metanol berturut-turut sebesar 225.50, 225.00, 226.00, dan 225.00 nm. Hal ini menunjukkan adanya transisi elektronik dari $\pi \rightarrow \pi^*$.

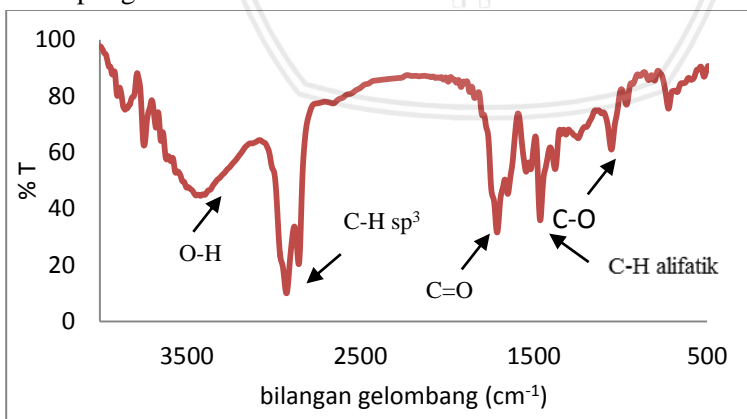
4.2.2 Spektrofotometer FT-IR

Berikut hasil spektrum FT-IR pada ekstrak sponge n-heksana:



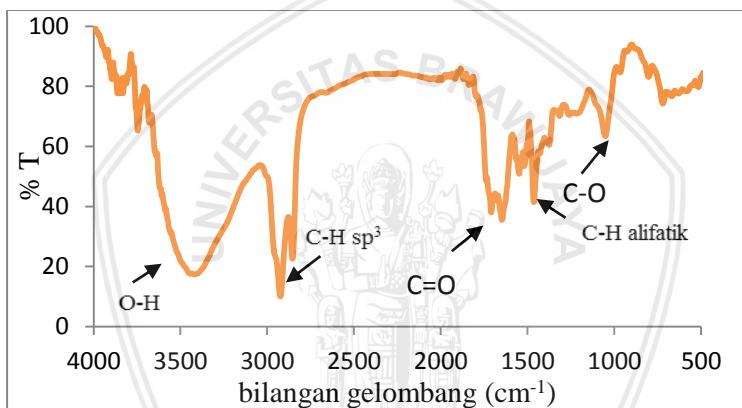
Gambar 4. 5 Hasil spektrum FT-IR ekstrak sponge n-heksana

Pada gambar diatas hasil spektrum infrared ekstrak n-heksana yang diperoleh menunjukkan serapan melebar dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang 3446.56 cm⁻¹ yang diduga merupakan serapan dari gugus hidroksil (-OH). Serapan 2923.88-2854.45 cm⁻¹ merupakan serapan ulur C-H alifatik yaitu sp³, pendekatan ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1461.94 cm⁻¹ yang menunjukkan tekukan CH. Berikut hasil spektrum FT-IR pada ekstrak sponge etil asetat:



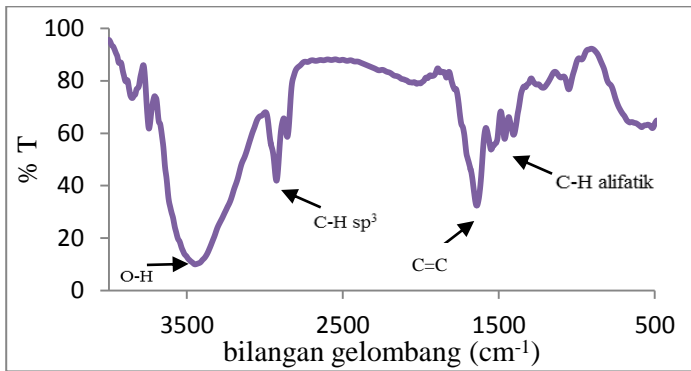
Gambar 4. 6 Hasil spektrum FT-IR ekstrak sponge etil asetat

Pada gambar diatas hasil spektrum infrared ekstrak etil asetat yang diperoleh menunjukkan serapan melebar dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang 3421.48 cm^{-1} yang diduga merupakan serapan dari gugus hidroksil (-OH). Serapan $2923.88\text{-}2854.45 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan serapan dengan intensitas tajam merupakan serapan ulur C-H alifatik yaitu sp^3 , pendekatan ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1461.94 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan CH. Bilangan gelombang 1710.74 cm^{-1} dengan intensitas tajam diduga terdapat serapan gugus karbonil (C=O). Bilangan gelombang 1051.13 cm^{-1} diduga merupakan serapan dari C-O sekunder. Berikut hasil spektrum FT-IR pada ekstrak sponge n-butanol:



Gambar 4. 7 Hasil spektrum FT-IR ekstrak sponge n-butanol

Pada gambar diatas hasil spektrum infrared ekstrak n-butanol yang diperoleh menunjukkan serapan melebar dengan intensitas tajam pada bilangan gelombang 3417.63 cm^{-1} yang diduga merupakan serapan dari gugus hidroksil (-OH). Serapan $2923.88\text{-}2854.45 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan ulur C-H alifatik yaitu sp^3 , pendekatan ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1461.94 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan CH. Bilangan gelombang 1708.81 cm^{-1} dengan intensitas tajam diduga terdapat serapan gugus karbonil (C=O). Bilangan gelombang 1051.13 cm^{-1} diduga merupakan serapan dari C-O sekunder. Berikut hasil spektrum FT-IR pada ekstrak sponge metanol.

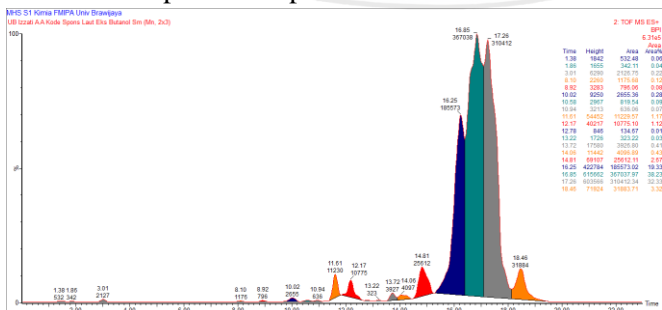


Gambar 4. 8 Hasil spektrum FT-IR ekstrak sponge metanol

Pada gambar diatas hasil spektrum infrared ekstrak metanol yang diperoleh menunjukkan serapan melebar dengan intensitas tajam pada bilangan gelombang 3446.56 cm^{-1} yang diduga merupakan serapan dari gugus hidroksil (-OH). Serapan $2925.81\text{--}2856.38\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan ulur C-H alifatik yaitu sp^3 , pendekatan ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1461.94 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan CH. Bilangan gelombang 1641.31 cm^{-1} menunjukkan adanya uluran C=C nonkonjugasi.

4.2.3 Hasil Analisis LC-MS/MS (*Liquid Chromatography Mass Spectra*)

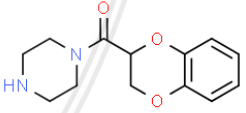

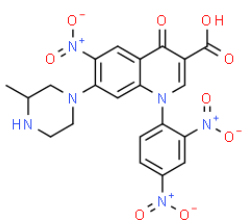
Hasil dugaan senyawa yang terdapat dalam ekstrak sponge n-butanol dalam bentuk kromatogram LC-MS/MS dengan puncak dalam waktu retensi yang muncul. Kromatogram LC-MS/MS ekstrak sponge n-butanol dapat dilihat pada **Gambar 4.9**

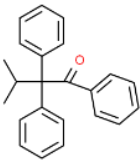
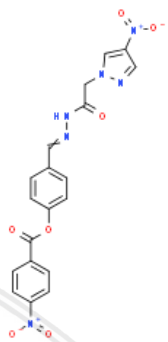
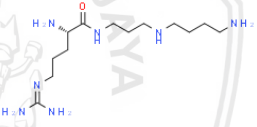
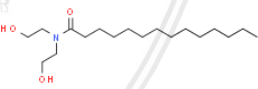
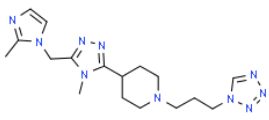


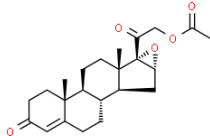
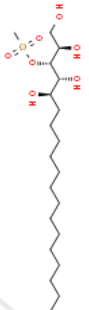
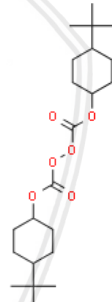
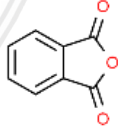
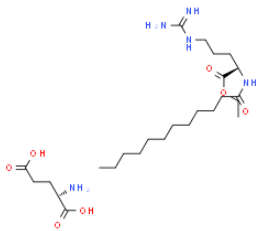
Gambar 4. 9 Kromatogram LC-MS/MS Ekstrak n-butanol

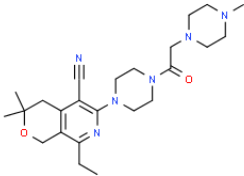
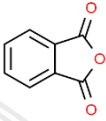
Berdasarkan hasil kromatogram diatas dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang terekstrak terdapat pada *retention time* ke 1.38, 1.89, 3.01, 8.10, 8.92, 10.02, 10.58, 10.94, 11.61, 12.17, 12.78, 14.06, 14.81, 16.25, 16.85, 17.26, dan 18.46 yang menunjukkan puncak tertinggi. Kemudian dilakukan analisa dengan bantuan *software Masslynx* untuk mengetahui pola kromatogram LC menunjukkan hubungan waktu retensi (Rt) dengan % kelimpahan. Selanjutnya setiap puncak retensi diamati untuk intepretasi spektrum MS/MS nya. Spektrum MS/MS yang dihasilkan pada masing-masing *retention time* menunjukkan nilai massa per muatan (m/z) dan persen kelimpahan. Kemudian dicari kemiripan nilai MS dengan kelimpahan tertinggi pada database di website *chemspider*. Dugaan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak sponge n-butanol disajikan pada **Tabel 4.3**

Tabel 4. 3 Identifikasi Senyawa Ekstrak n-butanol

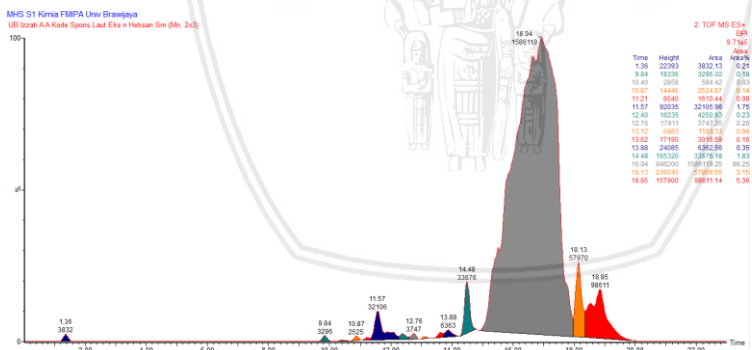
Rt	Rumus Molekul dan BM (m/z)	Nama senyawa dan luas Area	Struktur kimia
1.38	CH ₃ N ₂ O ₇ SCI 222.943	Unkown (532.48)	
1.86	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃ 248.28	N-1,4- Benzodioxane -2- carbonyl piperazine (342.11)	
3.01	C ₅ H ₁₂ S 104.21	1-Pentanethiol (2126.75)	
8.10	C ₂₁ H ₁₈ N ₆ O ₉ 498.40	1-(2,4- Dinitrophenyl)-7- (3-methyl-1- piperazinyl)-6- nitro-4-oxo-1,4- dihydro-3- quinolinecarboxy lic acid (1175.68)	

8.92	$C_{23}H_{22}O$ 314.42	3-Methyl-1,2,2-triphenyl-1-butanone (796.06)	
10.02	$C_{19}H_{14}N_6O_7$ 438.35	4-({[(4-Nitro-1H-pyrazol-1-yl)acetyl]hydrazono}methyl)phenyl 4-nitrobenzoate (2655.36)	
10.58	$C_6H_{18}N_{18}$ 342.20	Unkown (819.54)	
10.94	$C_{13}H_{31}N_7O$ 301.43	N-{3-[(4-Aminobutyl)amino]propyl}-N-(diamino methylene)-L-ornithin amide (636.06)	
11.61	$C_{18}H_{37}NO_3$ 316.49	N,N-Bis(2-hydroxyethyl)tetradecanamide (11229.57)	
12.17	$C_{17}H_{26}N_{10}$ 370.45	4-{4-Methyl-5-[(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)methyl]-4H-1,2,4-triazol-3-yl}-1-[3-(1H-tetrazol-1-yl)propyl]piperidine (10775.10)	

12.78	$C_{23}H_{30}O_5$ 386.48	(16 α)-3,20-Dioxo-16,17-epoxypregn-4-en-21-yl acetate (134.67)	
13.22	$C_{20}H_{43}O_7S$ 426.61	(2R,3R,4R,5R)-1,2,4,5-Tetrahydroxy-3-nonadecanyl methanesulfonate (323.22)	
13.72	$C_{22}H_{38}O_6$ 398.53	1-(2-Methyl-2-propanyl)-4-(((4-(2-methyl-2-propanyl)cyclohexyl)oxy)carbonyl)peroxy]carbonyl]oxy)cyclohexane (3926.80)	
14.06	$C_8H_4O_3$ 148.11	2-Benzofuran-1,3-dione (4096.89)	
14.81	$C_{25}H_{49}N_5O_7$ 531.68	L-Glutamic acid - ethyl N-2-dodecanoyl-L-argininate (1:1) (25612.11)	

16.25, 16.85	$C_{24}H_{36}N_6O_2$ 440.58	8-Ethyl-3,3-dimethyl-6-{4-[(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl]-1-piperazinyl}-3,4-dihydro-1H-pyrano[3,4-c]pyridine-5-carbonitrile (185573.02) (367037.97)	
17.26, 18.46	$C_8H_4O_3$ 148.11	2-Benzofuran-1,3-dione (310412.34) (31883.71)	

Hasil dugaan senyawa yang terdapat dalam ekstrak sponge n-heksana dalam bentuk kromatogram LC-MS/MS dengan puncak dalam waktu retensi yang muncul. Kromatogram LC-MS/MS ekstrak sponge n-butanol dapat dilihat pada **Gambar 4.10**

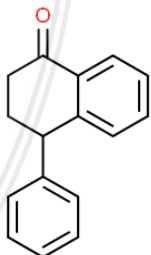


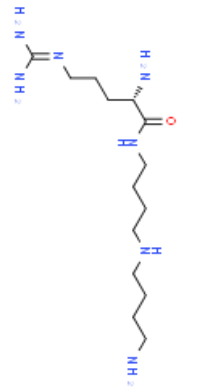

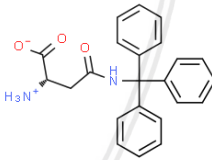
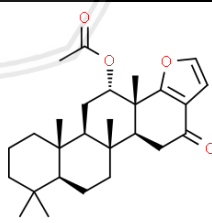
Gambar 4. 10 Kromatogram LC-MS/MS Ekstrak n-heksana

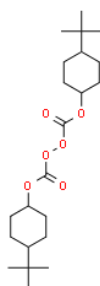
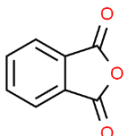
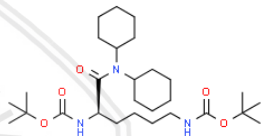
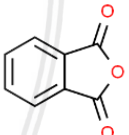
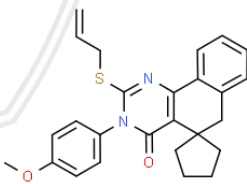
Berdasarkan hasil kromatogram diatas dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang terekstrak terdapat pada *retention time* ke 1.36, 9.84, 10.40, 10.87, 11.21, 11.57, 12.40, 12.76, 13.12, 13.62, 13.88, 14.48, 16.94, 18.13, dan 18.85 yang menunjukkan puncak tertinggi. Kemudian dilakukan analisa dengan bantuan software

Masslynx untuk mengetahui pola kromatogram LC menunjukkan hubungan waktu retensi (Rt) dengan % kelimpahan. Selanjutnya setiap puncak retensi diamati untuk intepretasi spektrum MS/MS nya. Spektrum MS/MS yang dihasilkan pada masing-masing *retention time* menunjukkan nilai massa per muatan (m/z) dan persen kelimpahan. Kemudian dicari kemiripan nilai MS dengan kelimpahan tertinggi pada database di website *chemspider*. Dugaan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak sponge n-heksana disajikan pada **Tabel 4.4**

Tabel 4. 4 Identifikasi Senyawa Ekstrak n-heksana

Rt	Rumus Kimia dan BM (m/z)	Nama senyawa dan Area	Struktur kimia
1.36	CH ₄ O ₆ SCl ₂ 214.06	Unknown (3832.130)	
9.84	C ₁₇ H ₃₂ N ₈ O 380.64	Unknown (3296.02)	
10.40	C ₁₆ H ₁₄ O 222.28	4-Phenyl-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalenone (584.42)	
10.87	C ₃ H ₂₇ N ₁₇ 301.27	Unknown (2524.87)	
11.21	C ₁₈ H ₄₀ N ₄ O ₅ 267.45	Unknown (1610.44)	

<p>11.57</p>	<p>$C_{14}H_{33}N_7O$ 315.46</p>	<p>N-{4-[(4-Amino butyl)amino]butyl}- N⁵-(diamino methylene)-L- ornithinamide (32105.96)</p>	
<p>12.40</p>	<p>$C_{19}H_{41}NO_3$ 331.53</p>	<p>N,N,N-Tributyl-1- butanaminium (2S)- 2-hydroxypropano ate (4250.63)</p>	
<p>12.76</p>	<p>$C_{23}H_{22}N_2O_3$ 374.43</p>	<p>(2S)-2-Ammonio -4- oxo-4-(tritylamino) butanoate (3747.35)</p>	
<p>13.12</p>	<p>$C_{27}H_{38}O_4$ 426.58</p>	<p>(5aS,5bR,7aS,11aS, 11bR,13S,13aR)- 5b,8,8,11a,13a- Pentamethyl-4-oxo- 4,5,5a,5b,6,7,7a,8,9, 10,11,11a,11b,12,13 ,13a-hexadecahydro chryseno[1,2-b] furan-13-yl acetate (1193.33)</p>	

13.62	$C_{22}H_{38}O_6$ 398.53	1-(2-Methyl-2-propanyl)-4-({[([4-(2-methyl-2-propanyl)cyclohexy]oxy}carbonyl)peroxy]carbonyl}oxy)cyclohexane (3016.59)	
13.88	$C_8H_4O_3$ 148.11	2-Benzofuran-1,3-dione (6362.56)	
14.48	$C_{28}H_{51}N_3O_5$ 509.72	N,N-Dicyclohexyl-N,-bis{[(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl}-D-lysineamide (33676.18)	
16.94, 18.13	$C_8H_4O_3$ 148.11	2-Benzofuran-1,3-dione (1586119.25) (57969.55)	
18.85	$C_{26}H_{26}N_2O_2S$ 430.56	2-(Allylsulfanyl)-3-(4-methoxyphenyl)-3H-spiro[benzo[h]quinazoline-5,1'-cyclopentan]-4(6H)-one (98611.14)	

Berdasarkan hasil identifikasi dari ekstrak n-butanol dan ekstrak n-heksana sponge dari family *Thorectidae sp.* memiliki tingkat yang toksisitas tinggi, hasil menunjukkan pola kromatogram hasil LC-MS/MS dengan beberapa puncak yang muncul pada waktu retensi yang berdekatan. Puncak-puncak yang diperoleh memiliki pola yang mirip pada ekstrak n-butanol dan ekstrak n-heksana. Hal

ini menunjukkan dugaan komponen dari senyawa yang terekstrak pada ekstrak n-butanol juga terekstrak pada ekstrak n-heksana. Ditinjau dari tingkat toksisitas dari uji terhadap *Artemia salina* Leach menunjukkan ekstrak n-butanol memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksana. Sehingga sesuai dengan hasil kromatogram LC-MS/MS ekstrak n-butanol lebih banyak daripada ekstrak n-heksana. Pada kromatogram n-butanol terdapat 19 puncak, sedangkan pada ekstrak n-heksana terdapat 15 puncak.

Puncak-puncak kromatogram yang terdapat dalam ekstrak n-butanol diduga memiliki kandungan komponen yang mendukung tingkat toksisitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksana, diantaranya pada waktu retensi 1.86; 3.01; 8.10; 8.92; 10.02 menit. Sedangkan senyawa dengan area terbesar pada ekstrak n-butanol yang diduga bersifat toksik yaitu 8-Ethyl-3,3-dimethyl-6- {4-[(4-methyl-1-piperazinyl) acetyl]-1- piperazinyl} -3,4-dihydro-1H-pyrano[3,4-c] pyridine-5-carbo nitrile pada waktu retensi 16,25 dengan area 185573.02 dan waktu retensi 16.85 dengan area 367037.97. Pada senyawa dengan area terbesar pada ekstrak n-heksana yang diduga bersifat toksik yaitu 2-Benzofuran-1,3-dione pada waktu retensi 16.94 dengan area 1586119.25 dan 18.13 dengan area 57969.55; 2-(Allylsulfanyl)-3-(4-methoxyphenyl)-3H-spiro[benzo[h]quinazoline-5,1'-cyclopentan]-4(6H)-one pada waktu retensi 18.85 dengan area 98611.14; dan N,N-Dicyclohexyl-N,-bis{[(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl}-D-lysine pada waktu retensi 14.48 dengan area 33676.18.

BAB V

KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

1. Tingkat toksisitas ekstrak n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan metanol dari sponge famili *Thorectidae sp.* memiliki sifat toksik dengan LC_{50} yaitu sebesar 84.809 ppm, 93.018 ppm, 58.657 ppm, dan 94.639 ppm. Sehingga diketahui tingkat toksisitas pada ekstrak sponge mulai dari yang lebih toksik sampai kurang toksik berturut-turut yaitu n-butanol (58.657 ppm) > n-heksana (84.809 ppm) > etil asetat (93.018 ppm) > metanol (94.639 ppm).
2. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak pelarut yang memberikan tingkat toksisitas yang tinggi berdasarkan uji toksisitas terhadap *Artemia salina Leach.* pada ekstrak n-butanol yaitu **L-Asam Glutamat – etil-N-2-dodekanoil-L-argininat (1:1); dan 8-Etil-3,3-dimetil-6-{4-[(4-metil-1-piperazinil)asetil]-1-piperazinil}-3,4-dihidro-1H-pirano[3,4-c]piridin-5-karbonitril.** Pada ekstrak n-heksana yaitu **2-(Alilsulfanil)-3-(4-metoksifenil)-3H-spiro[benzo[h]quinazolin-5,1'-siklopentan]-4(6H)-on; dan N,N-Disikloheksil-N,N-bis{(2-metil-2-propanil)oksi}karbonil}-D-lisinamida.** Diketahui pada kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa yang sama yaitu 2-Benzo furan-1,3-dion.

5.2. Saran

1. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan lebih lanjut tentang mengidentifikasi distribusi senyawa ekstrak sponge *Thorectidae sp.*

Pada penelitian selanjutnya juga disarankan untuk melakukan uji bioaktivitas metabolit sekunder lainnya seperti antioksidan, antitumor dan lain sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mohan, G., Thippamalai Thangappanpillai, A. K., & Ramasamy, B. (2016). Antimicrobial activities of secondary metabolites and phylogenetic study of sponge endosymbiotic bacteria, *Bacillus* sp. at Agatti Island, Lakshadweep Archipelago. *Biotechnology Reports*, *11*, 44–52. doi:10.1016/j.btre.2016.06.001
2. Nalini, S., Inbakandan, D., Venkatnarayanan, S., Mohammed Riyaz, S. U., Dheenan, P. S., Vinithkumar, N. V., ... Kirubakaran, R. (2019). PYRROLO isolated from marine sponge associated bacterium *Halobacillus kuroshimensis* SNSAB01 – Antifouling study based on molecular docking, diatom adhesion and mussel byssal thread inhibition. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *173*, 9–17. doi:10.1016/j.colsurfb.2018.09.044
3. Beedessee, G., Ramanjooloo, A., Aubert, G., Eloy, L., Surnam-Boodhun, R., Soest, R. W. M. van, ... Marie, D. E. P. (2012). Cytotoxic activities of hexane, ethyl acetate and butanol extracts of marine sponges from Mauritian Waters on human cancer cell lines. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *34*(2), 397–408. doi:10.1016/j.etap.2012.05.013
4. Gomes, N., Dasari, R., Chandra, S., Kiss, R., & Kornienko, A. (2016). Marine Invertebrate Metabolites with Anticancer Activities: Solutions to the “Supply Problem.” *Marine Drugs*, *14*(5), 98. doi:10.3390/md14050098
5. Kumar, M. S., & Pal, Asim. K. (2012). Investigation of bioactivity of extracts of Marine Sponge, *Spongosorites halichondrioides* (Dendy, 1905) from western coastal areas of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(3), S1784–S1789. doi:10.1016/S2221-1691(12)60495-X
6. Wang, J., Liu, L.-Y., Liu, L., Zhan, K.-X., Jiao, W.-H., & Lin, H.-W. (2018). Pellynols M–O, cytotoxic polyacetylenic alcohols

- from a *Niphates* sp. marine sponge. *Tetrahedron*, 74(27), 3701–3706. doi:10.1016/j.tet.2018.05.041
7. Lorig-Roach, N., Hamkins-Indik, F., Johnson, T. A., Tenney, K., Valeriote, F. A., & Crews, P. (2018). The potential of achiral sponge-derived and synthetic bromoindoles as selective cytotoxins against PANC-1 tumor cells. *Tetrahedron*, 74(2), 217–223. doi:10.1016/j.tet.2017.11.029
 8. Wirmandiyanthi, K. D., & Manurung, M. (2013). Uji TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI EKSTRAK SPONS *Haliclona fascigera* TERHADAP LARVA *Artemia salina* L. *Journal of Applied Chemistry*, 1, 6.
 9. Sapar, A., Noor, A., Soekamto, N. H., Ahmad, A., & Hadi, T. H. (2015). TOXICITY ASSESSMENT ON NINE SPONGES SPECIES FROM SPERMONDE ARCHIPELAGO, 16, 5.
 10. Cita, Y. P., Suhermanto, A., Radjasa, O. K., & Sudharmono, P. (2017). Antibacterial activity of marine bacteria isolated from sponge *Xestospongia testudinaria* from Sorong, Papua. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 450–454. doi:10.1016/j.apjtb.2017.01.024
 11. Mehbub, M. F., Perkins, M. V., Zhang, W., & Franco, C. M. M. (2016). New marine natural products from sponges (Porifera) of the order Dictyoceratida (2001 to 2012); a promising source for drug discovery, exploration and future prospects. *Biotechnology Advances*, 34(5), 473–491. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.12.008
 12. Máximo, P., Ferreira, L., Branco, P., Lima, P., & Lourenço, A. (2016). The Role of *Spongia* sp. in the Discovery of Marine Lead Compounds. *Marine Drugs*, 14(8), 139. doi:10.3390/md14080139
 13. Thomas, T. R. A., Kavlekar, D. P., & LokaBharathi, P. A. (2010). Marine Drugs from Sponge-Microbe Association—A Review. *Marine Drugs*, 8(4), 1417–1468. doi:10.3390/md8041417
 14. Mehbub, M., Lei, J., Franco, C., & Zhang, W. (2014). Marine Sponge Derived Natural Products between 2001 and 2010:

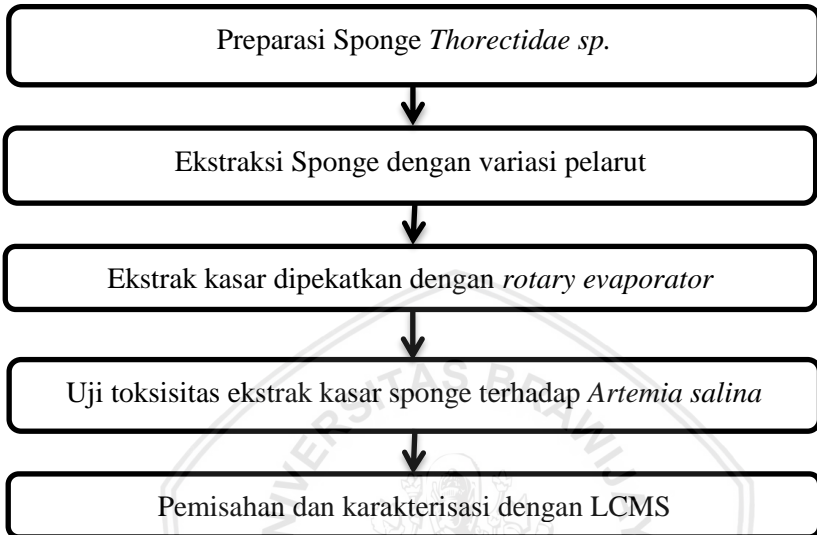
- Trends and Opportunities for Discovery of Bioactives. *Marine Drugs*, 12(8), 4539–4577. doi:10.3390/md12084539
15. Gustrifandi, H. (2011). PENGARUH PERBEDAAN PADAT PENAMPUNGAN DAN DOSIS PAKAN ALAMI TERHADAP PERTUMBUHAN LARVA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.), 3(2), 7.
 16. Jannah, M., Hanapi, A., & Fasya, A. G. (2014). Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan n-HEKSANA ALGA COKLAT SARGASSUM VULGARE DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA. *ALCHEMY*, (1). doi:10.18860/al.v0i1.2915
 17. Soemirat, J., & Ariesyadi, H. D. (2017). *Toksikologi Lingkungan*. Gajah Mada University Press.
 18. Isnansetyo, A., & Kurniastuty. (2007). *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton* (1st ed.). Gajah Mada University Press.
 19. Pagliara, P., & Caroppo, C. (2011). Cytotoxic and antimetabolic activities in aqueous extracts of eight cyanobacterial strains isolated from the marine sponge *Petrosia ficiformis*. *Toxicon*, 57(6), 889–896. doi:10.1016/j.toxicon.2011.03.006
 20. Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Panovska, T. K. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model, 10.
 21. Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31–34. doi:10.1055/s-2007-971236
 22. Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (2007). *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination* (Second.). CRC Press.
 23. Panjaitan, R. B. (n.d.). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxiae Cortex*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), 102.

24. McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., & Anderson, J. E. (1998). The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals, 2(32). doi:10.1177/009286159803200223
25. Kumar, M. S., Pandita, N. S., & Pal, A. K. (2012). LC-MS/MS as a tool for identification of bioactive compounds in marine sponge *Spongosorites halichondriodes* (Dendy 1905). *Toxicon*, 60(6), 1135–1147. doi:10.1016/j.toxicon.2012.07.011
26. Ardrey, R. E. (2003). *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An Introduction*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1002/0470867299
27. Kumar, B. R. (2017). Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(6), 349–364. doi:10.1016/j.jpha.2017.06.005
28. Rakibe, U., Tiwari, R., Mahajan, A., Rane, V., & Wakte, P. (2018). LC and LC–MS/MS studies for the identification and characterization of degradation products of acebutolol. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 8(6), 357–365. doi:10.1016/j.jpha.2018.03.001
29. Reinecke, M. G. (2004). *Organic Spectroscopic Analysis* By R. J. Anderson, D. J. Bendell, and P. W. Groundwater (University of Sunderland). Royal Society of Chemistry, Cambridge. 2004. vi + 176 pp. 19 × 25 cm. \$27.25. ISBN 0-85404-476-0. *Journal of Natural Products*, 67(12), 2158–2158. doi:10.1021/np030773b
30. Gunawan, B., & Azhari, C. D. (n.d.). KARAKTERISASI SPEKTROFOTOMETRI I R DAN SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (S E M) SENSOR GAS DARI BAHAN POLIMER POLY ETHELYN GLYCOL (P E G), 17.
31. Wewengkang, D. S., & Sumilat, D. A. (2014). KARAKTERISASI DAN BIOAKTIF ANTIBAKTERI SENYAWA, 1, 15.
32. Sayuti, M. (2017). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*), 1(3), 9.

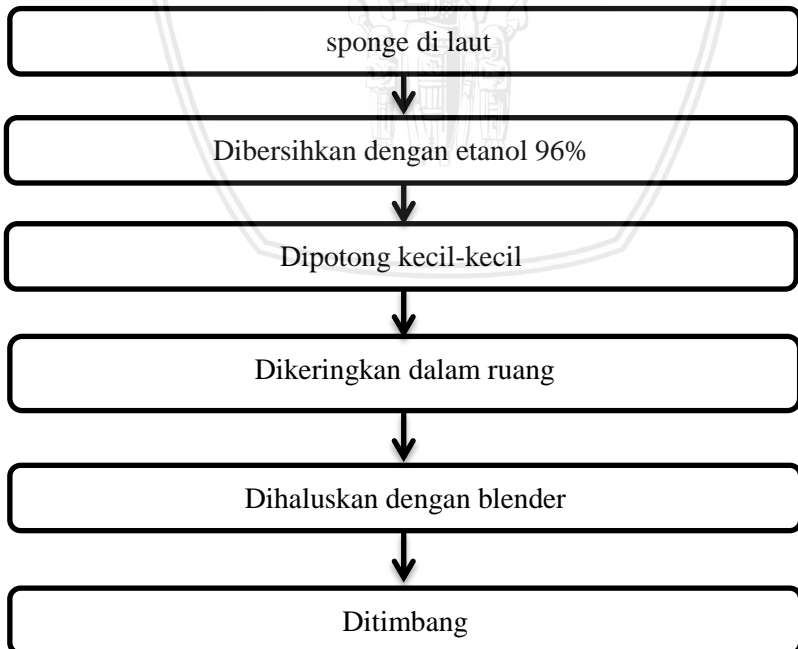
LAMPIRAN

Lampiran A. Diagram Alir

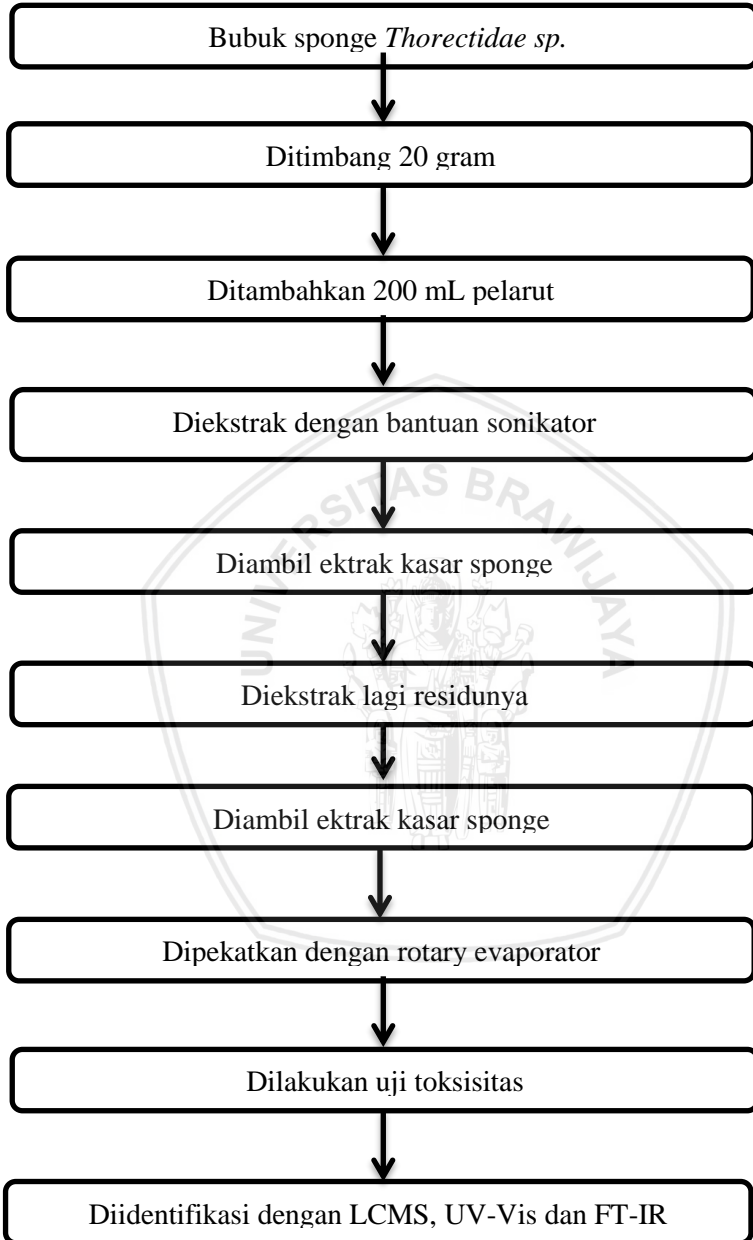
Lampiran A.1 Tahapan Penelitian



Lampiran A. 2 Preparasi Sampel

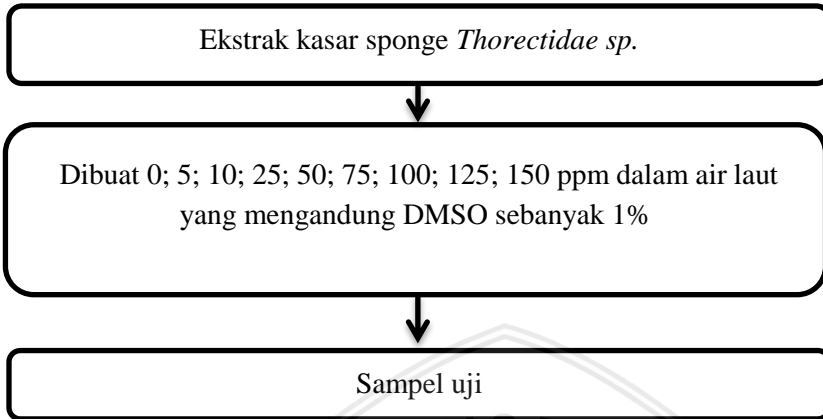


Lampiran A. 3 Ekstraksi Sponge dengan variasi pelarut

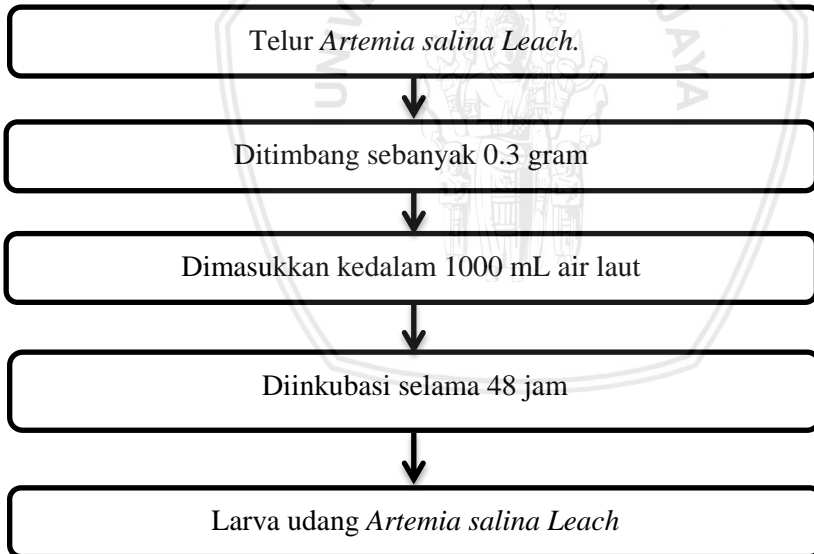


Lampiran A. 4 Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.

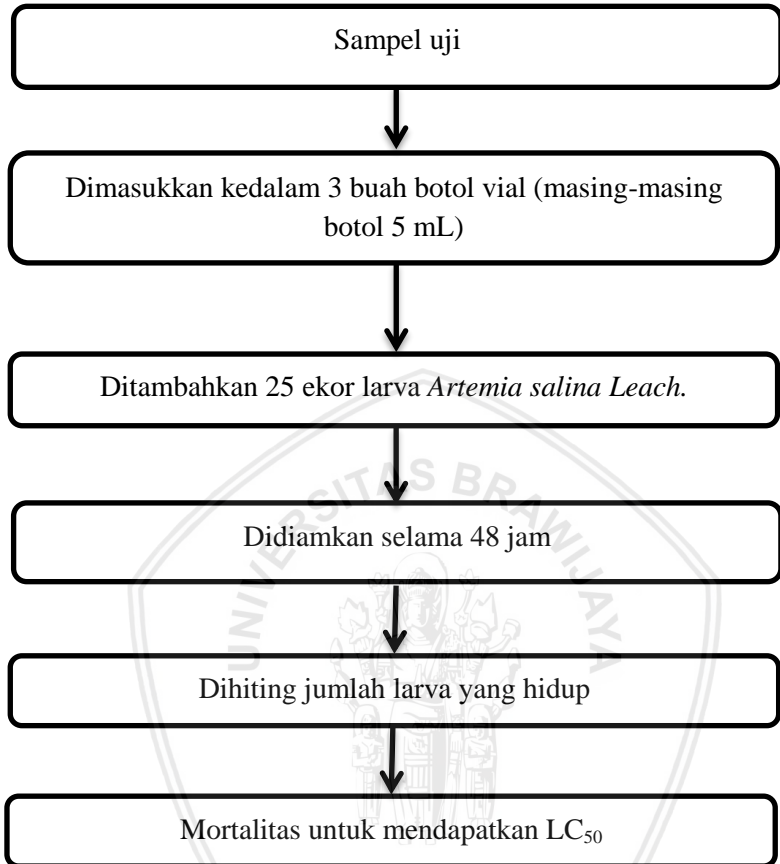
Lampiran A. 4. 1 Preparasi sampel ekstrak uji



Lampiran A. 4. 2 Penetasan telur larva udang *Artemia salina* Leach.



Lampiran A. 4. 3 Pelaksanaan uji toksisitas



Lampiran B. Perhitungan

Lampiran B. 1. Persen rendemen ekstrak kasar sponge

$$\text{Rendemen ekstrak\%} = \frac{\text{berat sampel hasil ekstrak}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

$$(1) \text{ Rendemen ekstrak n-heksana \%} = \frac{0,6 \text{ gram}}{79 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,76\%$$

$$(2) \text{ Rendemen ekstrak n-butanol\%} = \frac{0,66 \text{ gram}}{79 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,84\%$$

$$(3) \text{ Rendemen ekstrak etil asetat \%} = \frac{0,72 \text{ gram}}{79 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 0,91\%$$

$$(4) \text{ Rendemen ekstrak metanol \%} = \frac{2,14 \text{ gram}}{79 \text{ gram}} \times 100\% \\ = 2,71\%$$

Lampiran B. 2 Larutan Kontrol untuk Uji Toksisitas

$$\text{Larutan DMSO 1\%} = \frac{X}{500 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$X = 5 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat larutan kontrol dibutuhkan larutan DMSO pekat sebanyak 5 ml yang diencerkan dalam 500 ml air laut.

Lampiran B. 3 Persiapan larutan uji untuk uji toksisitas

3.1. Pembuatan larutan uji 200 ppm

$$200 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}}$$

$$160 \text{ mg/L} = \frac{X}{0,25 \text{ L}}$$

$$X = 200 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,25 \text{ L}$$

$$= 50 \text{ mg}$$

Jadi, larutan uji pekat ditimbang sebanyak 0,05 g, kemudian diencerkan dalam air laut yang mengandung DMSO 1% untuk membuat larutan dengan konsentrasi 250 dalam labu takar 250 ml.

3.2. Pembuatan larutan uji 150 ppm (v/v)

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\x \cdot 200 \text{ ppm} &= 25 \text{ mL} \cdot 150 \text{ ppm} \\x &= 18,75 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 18,75 mL untuk membuat larutan uji 150 ppm didalam labu takar 25 mL

3.3. Pembuatan larutan uji 125 ppm (v/v)

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\x \cdot 200 \text{ ppm} &= 25 \text{ mL} \cdot 125 \text{ ppm} \\x &= 15,625 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 15,625 mL untuk membuat larutan uji 125 ppm didalam labu takar 25 mL

3.4. Pembuatan larutan uji 100 ppm (v/v)

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\x \cdot 160 \text{ ppm} &= 25 \text{ mL} \cdot 100 \text{ ppm} \\x &= 12,500 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 12,500 mL untuk membuat larutan uji 100 ppm didalam labu takar 25 mL

3.5. Pembuatan larutan uji 75 ppm (v/v)

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\x \cdot 200 \text{ ppm} &= 25 \text{ mL} \cdot 75 \text{ ppm} \\x &= 9,375 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 9,375 mL untuk membuat larutan uji 75 ppm didalam labu takar 25 mL

3.6. Pembuatan larutan uji 50 ppm (v/v)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$x \cdot 200 \text{ ppm} = 25 \text{ mL} \cdot 50 \text{ ppm}$$

$$x = 6,250 \text{ mL}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 6,250 mL untuk membuat larutan uji 50 ppm didalam labu takar 25 mL

3.7. Pembuatan larutan uji 25 ppm (v/v)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$x \cdot 200 \text{ ppm} = 25 \text{ mL} \cdot 25 \text{ ppm}$$

$$x = 3,125 \text{ mL}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 3,125 mL untuk membuat larutan uji 25 ppm didalam labu takar 25 mL

3.8. Pembuatan larutan uji 10 ppm (v/v)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$x \cdot 200 \text{ ppm} = 25 \text{ mL} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$x = 1,250 \text{ mL}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 1,250 mL untuk membuat larutan uji 10 ppm didalam labu takar 25 mL

3.9. Pembuatan larutan uji 5 ppm (v/v)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$x \cdot 200 \text{ ppm} = 25 \text{ mL} \cdot 5 \text{ ppm}$$

$$x = 0,625 \text{ mL}$$

Jadi dibutuhkan larutan uji 200 ppm sebanyak 0,625 mL untuk membuat larutan uji 5 ppm didalam labu takar 25 mL

1. % mortality (Kematian Larva) =

$$\frac{\text{Jumlah larva uji mati} - \text{jumlah larva kontrol mati}}{\text{Jumlah total larva uji}} \times 100\%$$

1.1 Ekstrak n-heksana

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan Kematian			Rata-rata Kematian	SD
	1	2	3		
5	5	3	4	4.00	±1.00
10	6	7	6	6.33	±0.58
25	8	9	8	8.33	±0.58
50	10	11	10	10.33	±0.58
75	10	11	12	11.00	±1.00
100	14	15	15	14.67	±0.58
125	17	15	18	16.67	±1.53
150	19	18	16	17.67	±1.53

Konsentrasi (ppm) [x]	Rata-rata kematian	Rata-rata Total larva	%mortality [y]
0	0	25	0
5	4	25	16.00
10	6	25	24.00
25	8	25	32.00
50	10	25	40.00
75	11	25	44.00
100	15	25	60.00
125	17	25	68.00
150	18	25	72.00

Nilai LC_{50} (x)

$$y = 0.4211x + 14.287$$

$$x = \frac{50 - 14.287}{0.4211}$$

$$x = 84.808$$

Jadi berdasarkan persamaan regresi linier diperoleh LC_{50} 84.808 ppm

1.2 Ekstrak Etil Asetat

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan kematian			Rata-rata Kematian	SD
	1	2	3		
5	4	3	3	3.33	±0.58
10	6	6	5	5.67	±0.58
25	7	8	9	8.00	±1.00
50	10	10	11	10.33	±0.58
75	12	14	11	12.33	±1.53
100	10	14	16	13.33	±3.06
125	14	15	17	15.33	±1.53
150	19	17	16	17.33	±1.53

Konsentrasi (ppm)[x]	Rata-rata kematian	Rata-rata total larva	%mortality [y]
0	0	25	0
5	3	25	12.00
10	6	25	24.00
25	8	25	32.00
50	10	25	40.00
75	12	25	48.00
100	13	25	52.00
125	15	25	60.00
150	17	25	68.00

Nilai $LC_{50}(x)$

$$y = 0.3837x + 14.309$$

$$x = \frac{50 - 14.309}{0.3837}$$

$$x = 93.018$$

Jadi berdasarkan persamaan regresi linier diperoleh LC_{50} 93.018 ppm

1.3 Ekstrak n-butanol

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan kematian			Rata-rata kematian	SD
	1	2	3		
5	4	9	5	6.00	±2.65
10	8	10	6	8.00	±2.00
25	10	11	11	10.67	±0.58
50	12	14	13	13.00	±1.00
75	18	14	17	16.33	±2.08
100	17	16	18	17.00	±1.00
125	22	18	20	20.00	±2.00
150	24	22	24	23.33	±1.15

Konsentrasi (ppm) [x]	Rata-rata kematian	Rata-rata Total larva	%mortality
0	0	25	0
5	6	25	24.00
10	8	25	32.00
25	11	25	44.00
50	13	25	52.00
75	16	25	64.00
100	17	25	68.00
125	20	25	80.00
150	23	25	92.00

Nilai LC_{50} (x)

$$y = 0.4951x + 20.959$$

$$x = \frac{50 - 20.959}{0.4951}$$

$$x = 58.657$$

Jadi berdasarkan persamaan regresi linier diperoleh LC_{50} 58.657 ppm

1.4 Ekstrak methanol

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan kematian			Rata-rata kematian	SD
	1	2	3		
5	5	1	5	3.67	±2.31
10	7	5	4	5.33	±1.53
25	8	7	5	6.67	±1.53
50	7	9	10	8.67	±1.53
75	6	9	14	9.67	±4.04
100	10	14	11	11.67	±2.08
125	16	14	17	15.67	±1.53
150	19	20	15	18.00	±2.65

Konsentrasi (ppm) [x]	Ratarata kematian	Rata-rata total larva	%mortality
0	0	25	0
5	4	25	16.00
10	5	25	20.00
25	7	25	28.00
50	9	25	36.00
75	10	25	40.00
100	12	25	48.00
125	16	25	64.00
150	18	25	72.00

Nilai LC₅₀ (x)

$$y=0.4041x+11.756$$

$$x = \frac{50-11.756}{0.4041}$$

$$x = 94.639$$

Jadi berdasarkan persamaan regresi linier diperoleh LC₅₀ 94.639 ppm

repository.ub.ac.id

Lampiran C. Dokumentasi Penelitian

Gambar C. 1 preparasi sampel



Gambar C. 2 proses ekstraksi



Gambar C. 3 proses evaporasi dan kultur *Artemia salina* Leach.

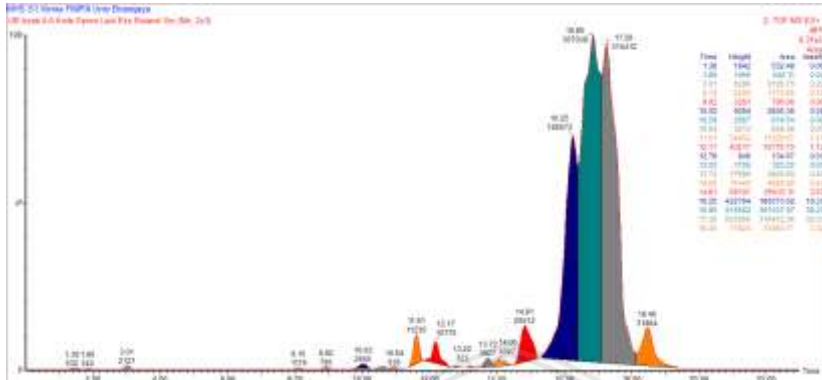


Gambar C. 4 hasil evaporasi (ekstrak kasar)

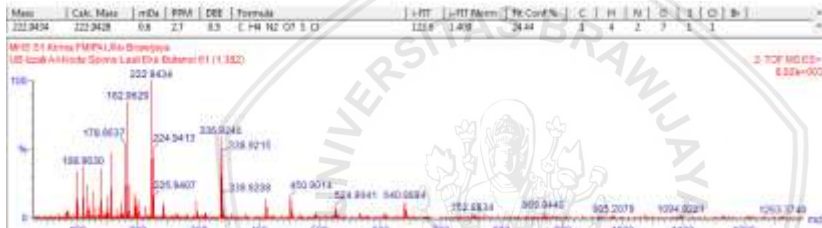


Lampiran D. Hasil Analisa LC-MS/MS

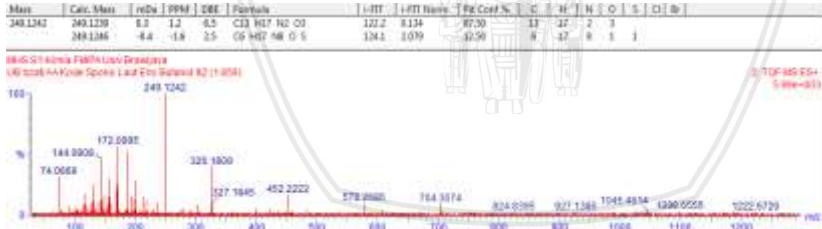
Lampiran D. 1 Kromatogram Ekstrak Sponge n-butanol



Lampiran D. 1. 1. Waktu retensi (Rt) 1.38



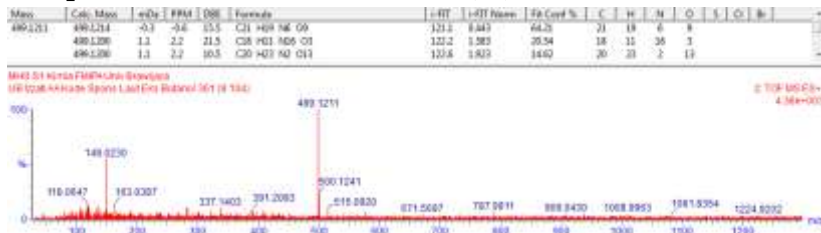
Lampiran D. 1. 2. Waktu retensi (Rt) 1.86



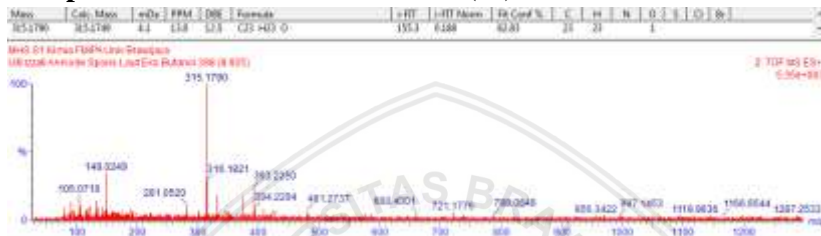
Lampiran D. 1. 3. Waktu retensi (Rt) 3.01



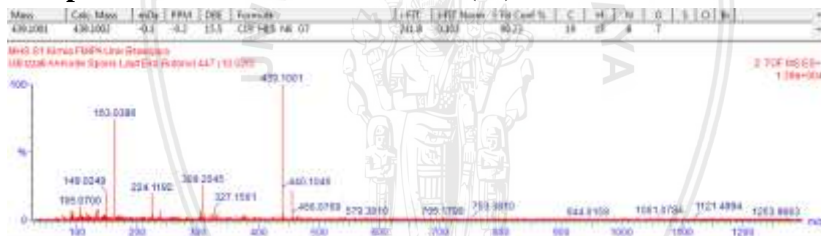
Lampiran D. 1. 4. Waktu retensi (Rt) 8.10



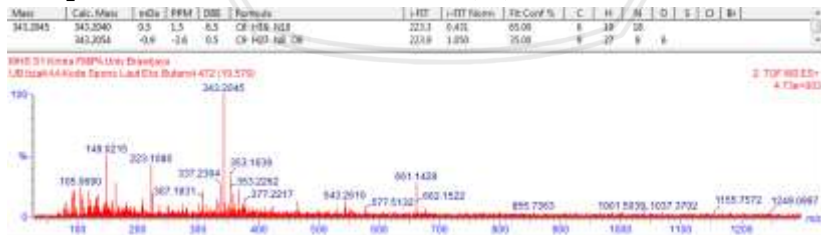
Lampiran D. 1. 5. Waktu retensi (Rt) 8.92



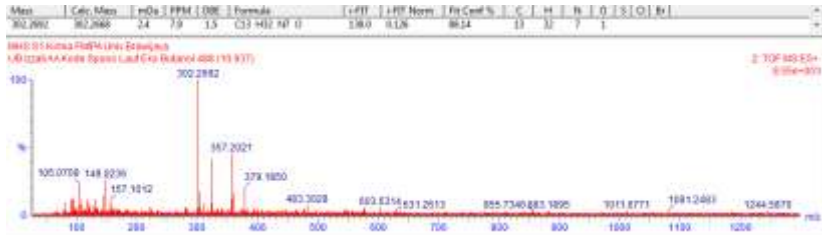
Lampiran D. 1. 6. Waktu retensi (Rt) 10.02



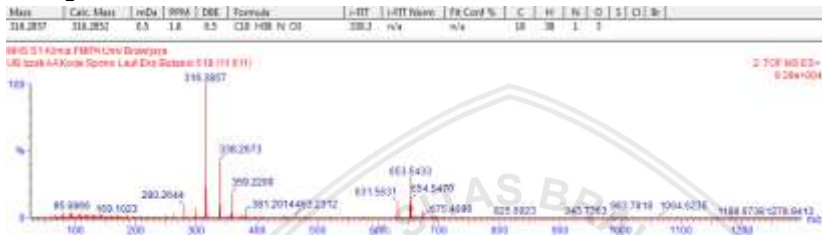
Lampiran D. 1. 7. Waktu retensi (Rt) 10.58



Lampiran D. 1. 8. Waktu retensi (Rt) 10.94



Lampiran D. 1. 9. Waktu retensi (Rt) 11.61



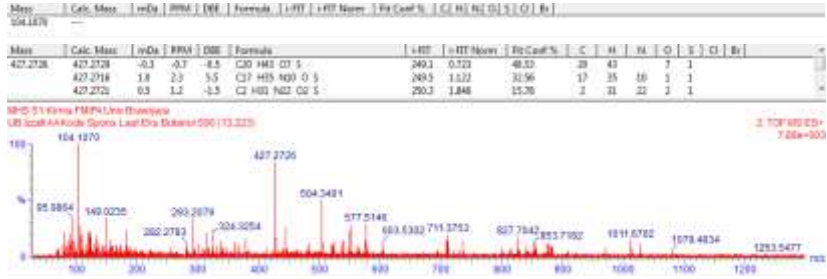
Lampiran D. 1. 10. Waktu retensi (Rt) 12.17



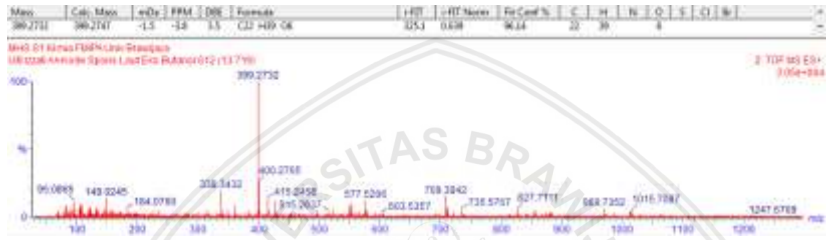
Lampiran D. 1. 11. Waktu retensi (Rt) 12.78



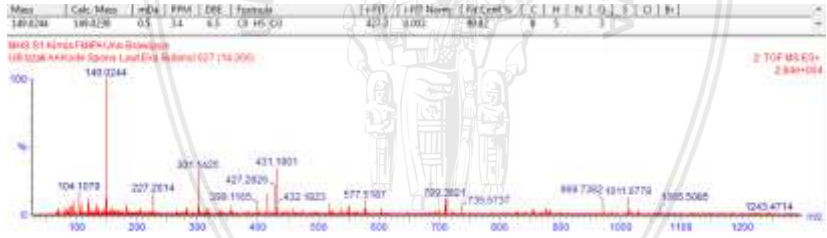
Lampiran D. 1. 12. Waktu retensi (Rt) 13.22



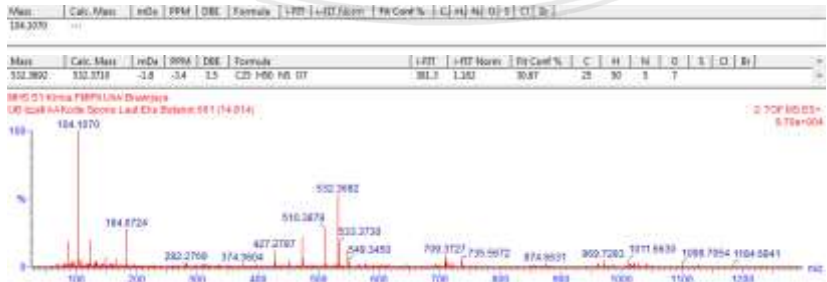
Lampiran D. 1. 13. Waktu retensi (Rt) 13.72



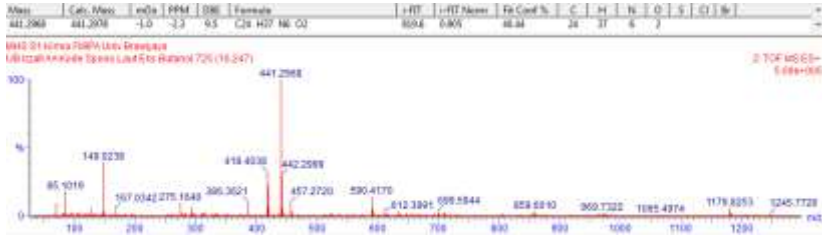
Lampiran D. 1. 14. Waktu retensi (Rt) 14.06



Lampiran D. 1. 15. Waktu retensi (Rt) 14.81



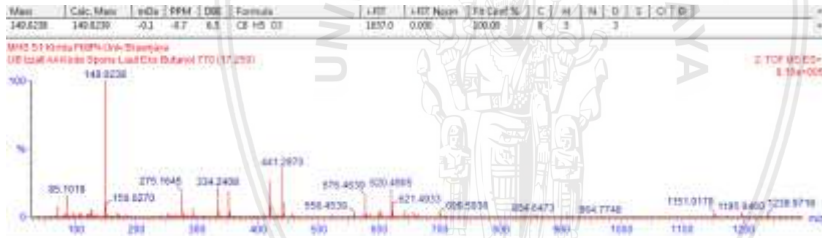
Lampiran D. 1. 16. Waktu retensi (Rt) 16.25



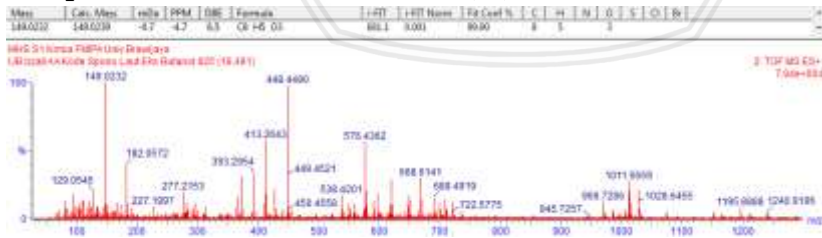
Lampiran D. 1. 17. Waktu retensi (Rt) 16.85



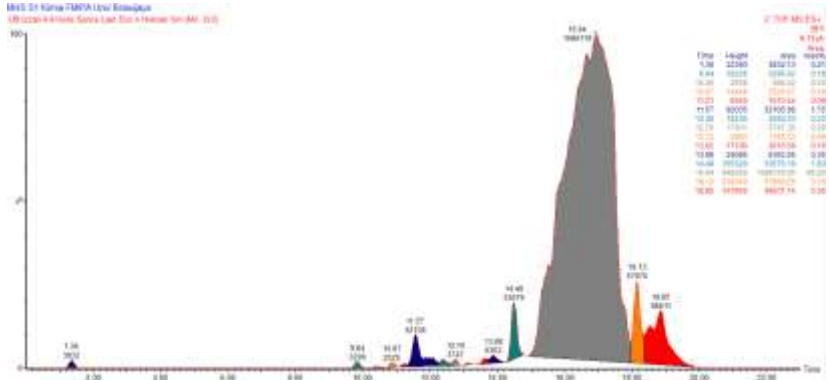
Lampiran D. 1. 18. Waktu retensi (Rt) 17.26



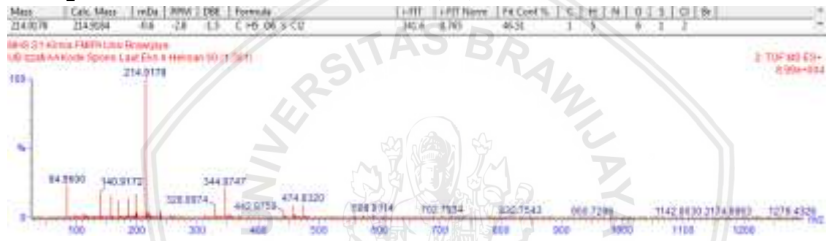
Lampiran D. 1. 19. Waktu retensi (Rt) 18.46



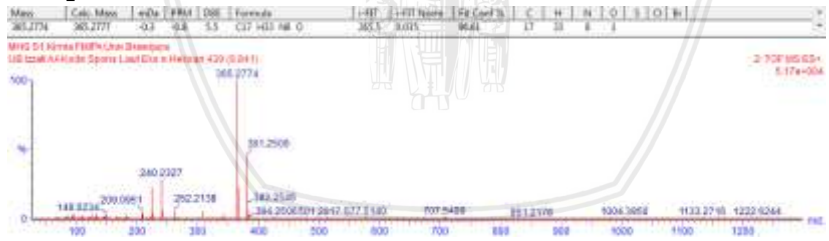
Lampiran D. 2 Kromatogram Ekstrak Sponge n-heksana



Lampiran D. 2. 1. Waktu retensi (Rt) 1.36



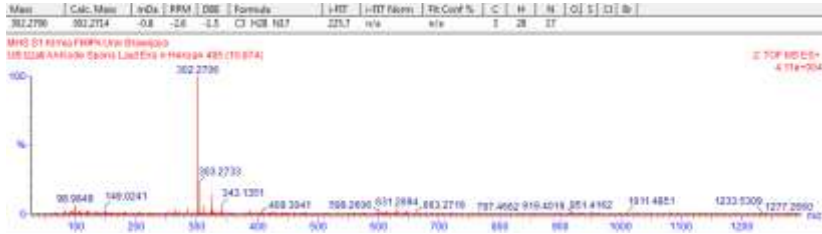
Lampiran D. 2. 2. Waktu retensi (Rt) 9.84



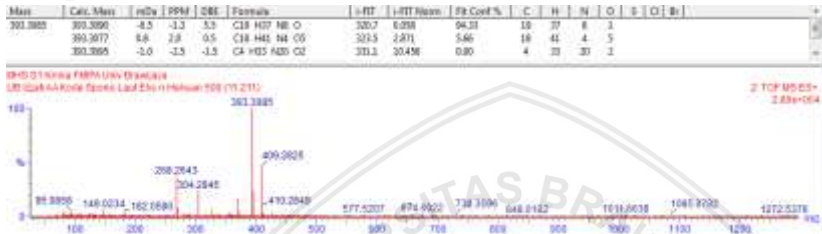
Lampiran D. 2. 3. Waktu retensi (Rt) 10.40



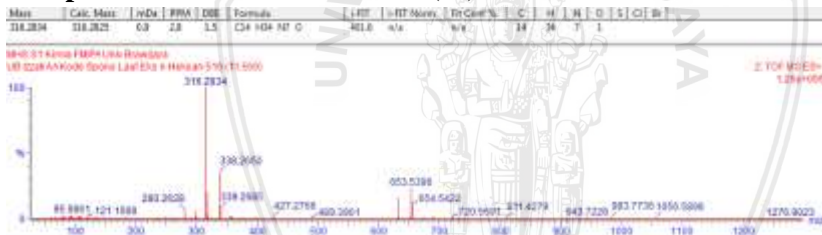
Lampiran D. 2. 4. Waktu retensi (Rt) 10.87



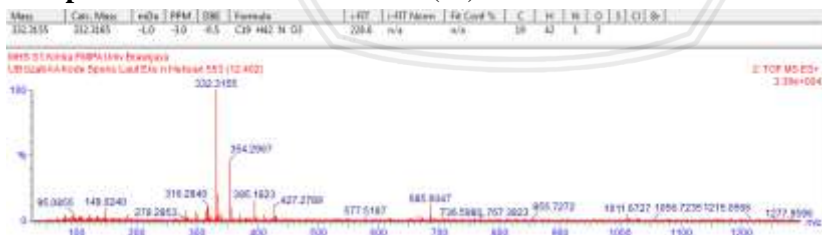
Lampiran D. 2. 5. Waktu retensi (Rt) 11.21



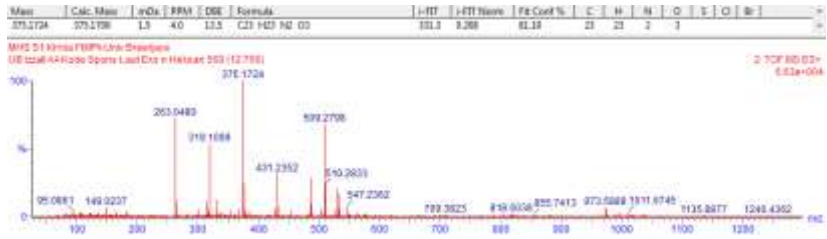
Lampiran D. 2. 6. Waktu retensi (Rt) 11.57



Lampiran D. 2. 7. Waktu retensi (Rt) 12.40



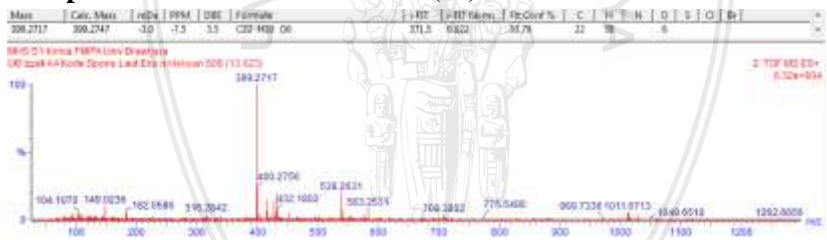
Lampiran D. 2. 8. Waktu retensi (Rt) 12.76



Lampiran D. 2. 9. Waktu retensi (Rt) 13.12



Lampiran D. 2. 10. Waktu retensi (Rt) 13.62



Lampiran D. 2. 11. Waktu retensi (Rt) 13.88



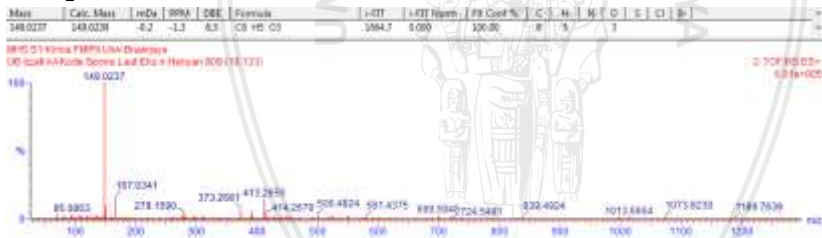
Lampiran D. 2. 12. Waktu retensi (Rt) 14.48



Lampiran D. 2. 13. Waktu retensi (Rt) 16.94



Lampiran D. 2. 14. Waktu retensi (Rt) 18.13



Lampiran D. 2. 15. Waktu retensi (Rt) 18.85



O