



Identifikasi komponen lipofilik fraksi n-heksan spons *Agelas nakamurai* asal Pulau Randayan Kalimantan Barat (Identification of lipophilic component of n-hexane fraction on *Agelas nakamurai* Sponge from Randayan Island, West Kalimantan)

Ajuk Sapar^{*}, Hamzi Anwari, dan Gusrizal
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tanjungpura
Kontak : Ajuk_Chem@yahoo.com

ABSTRACT

The isolation of lipophilic component of CC_7 on n-hexane fraction of *Agelas nakamurai* sponge has been conducted. The isolates are liquid oil colorless in 5.1 mg from 53,7 g sample. The isolates were analyzed by GC-MS and FTIR. The results of the analysis isolate CC_7 by FTIR showed the typical vibration of stretching at 2956,87 (asym. -CH₃), 2924,09 (asym. -CH₂), 2854,65 (sym. -CH₃), 1730,15 (C=O), 1662,64 (C=C), 1595,13 (C-C(O)), 1269,16 (C-O), 1186,22 (C-C(O)-O), 1111,00 (O-C-C), 1020,34 (C-O-C-C), 962,48 (=C-H), 678,94 and 657,73 (cis -HC=CH-), bending rocking (-CH₂-) at 731,02, bending (-CH₂) dan (-CH₃) at 1460,11 dan 1373,32. The results of GC-MS analysis showed the lipophilic component such as *methyl palmitate* (t_R 19,77; m/z = 270), *ethyl palmitate* (t_R 21,07; m/z = 284), *palmitic acid* (t_R 21,18; m/z = 256), *ethyl oleate* (t_R 24,09; m/z 310), *tributyl asonitate* (t_R 24,38; m/z = 342), *tributyl citrate* (t_R 24,95), *tributyl acetyl* (t_R 26,41; m/z = 402), *dioctyl adipate* (t_R 28,11; m/z =m 370, and *squalene* (t_R 30,30; m/z 410).

Key words: *Agelas nakamurai*, n-hexane fraction, the organic compounds

I. Pendahuluan

Spons telah diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, steroid dan lain-lain dengan keragaman struktur yang unik dan menarik untuk dijadikan sebagai senyawa pemandu (*lead compound*) dalam sintesis bahan baku obat. Penelitian terhadap spons *Agelas nakamurai* telah banyak dilakukan di berbagai negara dan pada fraksi polar yaitu metanol ditemukan *Slagenine A*, *Slagenine B* dan *Slagenine C* asal perairan Okinawa (Dembitsky and Tolstikov, 2003; Tsuda *et al.*, 1999), *Longamide C*, *Mukanadine C*, *Agelasine D*, *Ageloxime D* dan *Hymenidine* asal Pulau Menjangan (Hertiani *et al.*, 2010), *Agelasidine B*, *Agelasidine C* asal perairan Okinawa (Bhakuni, 2005). Selain *Slagenine A*, *Slagenine B* dan *Slagenine C* juga terdapat *Agelasine D*, *Agelasine E*, dan *Agelasine F* pada spons *A. nakamurai* asal perairan Okinawa (Gordaliza, 2009). Belum

adanya informasi dan hasil penelitian tentang komponen lipofilik dari fraksi n-heksan pada spons *Agelas nakamurai* asal Perairan Pulau Randayan, Kalimantan Barat menjadi latar belakang dilakukannya penelitian ini.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah GC-MS (Agilent Technologies 6890-5973 MSD), FTIR, kolom flash kromatografi d 1,5 cm, lampu UV (Vettler GMBH), neraca analitik (Mettler AE 2000), dan rotary evaporator.

Bahan-bahan E.Merck yang digunakan adalah aseton, diklorometan, etil asetat, metanol, dan n-heksan. Bahan lainnya adalah vanilin, dan silika gel 60 (0,063-0,200 mm).

2.2. Sampling

Sampel spons *Agelas nakamurai* diambil dari perairan Pulau Randayan Kalimantan Barat dengan Scuba Diving pada kedalaman 9 m dan diberi kode Ajuk2 (Gambar 1) Hasil identifikasi taksonomi pada Laboratorium Marine Natural Product LON

LIPI Ancol : Kingdom Animalia, Filum Porifera, Kelas Demospongiae, Ordo Agelasida. Famili Agelasidae, Spesies *Agelas nakamurai*.

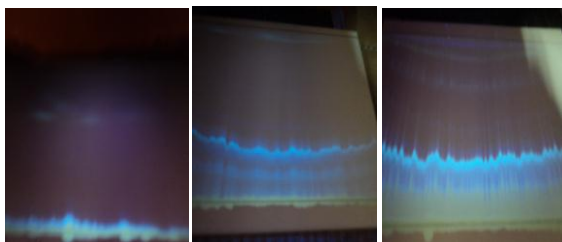


Gambar 1. Spons *Agelas nakamurai*

2.3. Ekstraksi, isolasi dan purifikasi

Sebanyak 53,7 g gram spons *Agelas nakamurai* dimaserasi menggunakan metanol. Setelah ekstrak diuapkan menggunakan evaporator, diperoleh ekstrak metanol sebanyak 16,831 gram. Kemudian ekstrak metanol dipartisi menggunakan n-heksan dan setelah diuapkan diperoleh ekstrak n-heksan seberat 0,321 gram. Uji spesifik terhadap fraksi n-heksan menggunakan vanilin dan mengindikasikan keberadaan senyawa lipid dan terpen yang

memberikan perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi warna merah, orange dan biru kehitaman. Penelusuran komposisi eluen yang tepat untuk kolom menggunakan berbagai pelarut tunggal seperti n-heksan, aseton, diklorometan, serta kombinasi dua pelarut yaitu n-heksan:diklorometan, n-heksan:etil asetat, dan n-heksan:aseton. Hasil KLT menunjukkan bahwa kombinasi n-heksan : DCM (8,5:1,5) dapat digunakan sebagai acuan untuk fraksinasi dengan kromatografi kolom flash. Hasil fraksinasi dengan kolom flash diperoleh sebanyak 246 fraksi, kemudian dengan dipandu lampu UV dan reagen vanilin diperoleh 32 fraksi gabungan. Fraksi CC (gabungan fraksi 229-235 dengan berat 42,8 mg) menunjukkan pola noda dengan pendar biru yang sangat kuat di bawah UV 366 dan spot biru dan coklat terhadap reagen vanilin. Kemudian dilakukan purifikasi terhadap kedua fraksi menggunakan KLT preparatif (Gambar 2).



Gambar 2. Pola KLT preparatif isolat CC

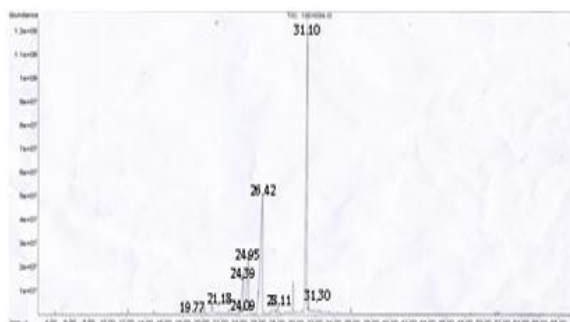
Setelah itu dianalisis lebih lanjut dengan GC-MS dan H-NMR. Tahapan purifikasi dilakukan terhadap gabungan fraksi CC menggunakan KLT preparatif dengan kombinasi pelarut n-heksan:DCM:metanol (2:7,8:0,2) dan diperoleh 7 isolat dimana isolat CC_7 dengan berat 5,1 mg yang akan diteruskan ke tahap analisis GC-MS dan FTIR

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis GC-MS

Analisa GC-MS terhadap isolat CC_7 menunjukkan bahwa isolat bukan senyawa murni dan terjadi pemisahan pada rentang waktu retensi 12,00-36,00 menit. Kromatogram hasil GC-MS dapat dilihat pada Gambar 3 dan komponen yang teridentifikasi melalui GC-MS dapat dilihat

pada Tabel 1. Analisis terhadap *peak-peak* GC-MS hanya dilakukan pada *peak* yang memiliki *similarity index* (kemiripan) tinggi. Spektrum MS tiap *peak* yang dianalisis menunjukkan berat molekul fragmen-fragmen yang terbentuk dari kerangka senyawa yang teridentifikasi.



Gambar 3. Kromatogram GC isolat CC_7

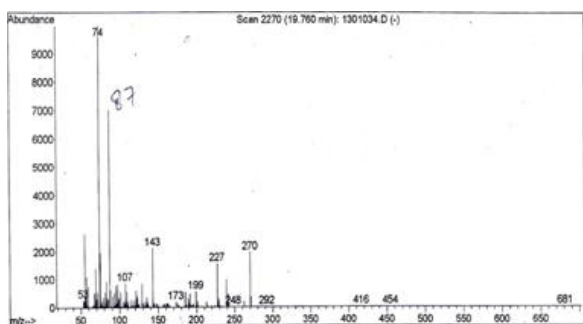
Tabel 1. Komponen lipofilik Isolat CC_7 hasil GC-MS

Waktu Retensi	Luas Area (%)	Jenis senyawa organik	Berat Molekul	Rumus Molekul	SI
19,77	0,29	Methyl palmitate	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	98
21,07	1,57	Ethyl palmitate	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	89
21,18	0,38	Palmitic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	99
24,09	0,45	Ethyl oleate	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	99
24,38	6,08	Tributyl aconitate	342	C ₁₈ H ₃₀ O ₆	95
24,95	12,16	Tributyl citrate	360	C ₁₈ H ₃₀ O ₆	90
26,42	30,15	Tributyl acetyl	402	C ₂₀ H ₃₄ O ₈	83
28,11	0,81	Adipic acid	370	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	95
30,10	39,18	6,7,8,9-tetrahydro-11-phenyl-10H-azepine (1,2-a) indole*	-	-	42
31,30	0,31	Squalene	410	C ₃₀ H ₅₀	98

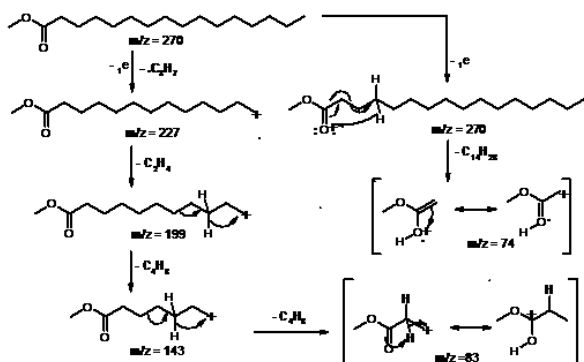
Ket. *tidak ada spektrumnya. SI = *similarity index*

3.1.1. Analisis fragmentasi MS isolat CC_7 pada t_R 19,77

Massa ion molekul isolat CC_7 pada t_R 19,77 adalah $m/z=270$. Fragmen ion yang terbentuk yaitu $m/z = 270, 227, 199, 143, 87,$ dan 74 . Pola fragmentasinya memiliki kemiripan dengan pola fragmentasi MS senyawa *methyl palmitate* dari data library MS. Spektrum MS dan mekanisme fragmentasi isolat CC_7 pada t_R 19,77 dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.



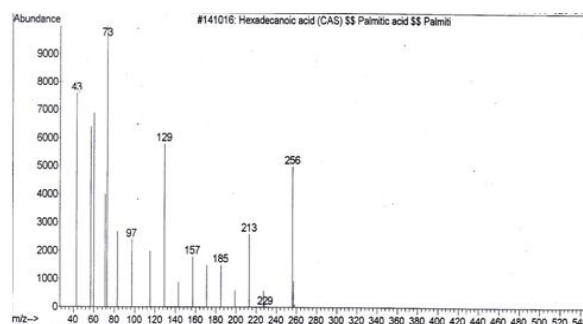
Gambar 4. Spektrum MS isolat CC_7 pada t_R 19,77



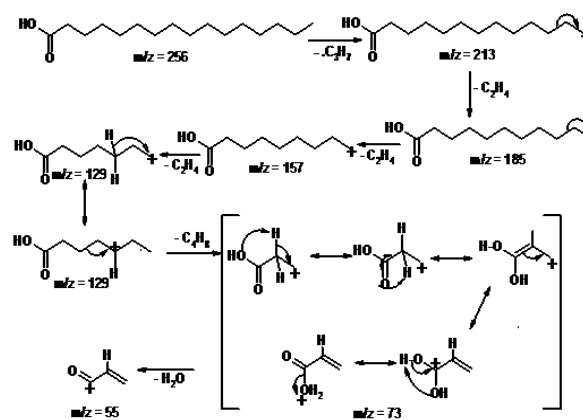
Gambar 5. Mekanisme fragmentasi molekul pada t_R 19,77 dari isolat CC_7

3.1.2. Analisis fragmentasi MS isolat CC_7 pada t_R 21,18

Massa ion molekul isolat CC_7 pada t_R 21,18 adalah $m/z=256$. Fragmen ion molekul yang terbentuk yaitu $m/z = 256, 213, 185, 157, 129, 73,$ dan 55 . Pola fragmentasinya mirip *palmitinic acid* dari data library MS. Spektrum MS dan mekanisme fragmentasi dapat dilihat pada Gambar 6 dan 7.



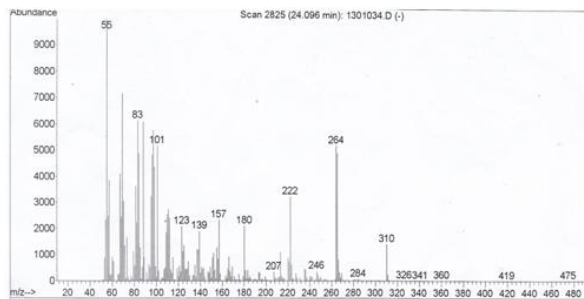
Gambar 6. Spektrum MS isolat CC_7 pada t_R 21,18



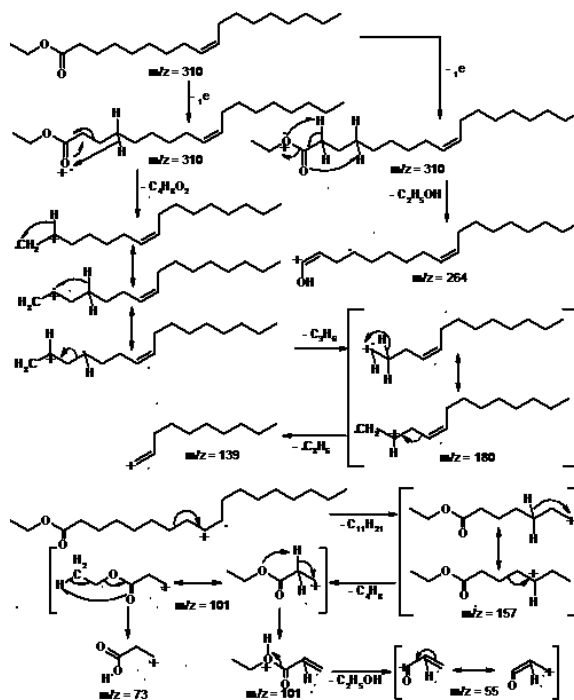
Gambar 7. Mekanisme fragmentasi molekul dari isolat CC_7 pada t_R 21,18.

3.1.3. Analisis fragmentasi MS isolat CC_7 pada t_R 24,09

Massa ion molekul isolat CC_7 pada t_R 24,09, $m/z=310$. Fragmen ion molekulnya yaitu $m/z = 310, 264, 222, 180, 157, 139, 101, 83$ dan 55 . Pola fragmentasinya mirip *ethyl oleate* dari data *library* MS. Spektrum MS dan mekanisme fragmentasi dapat dilihat pada Gambar 8 dan 9.



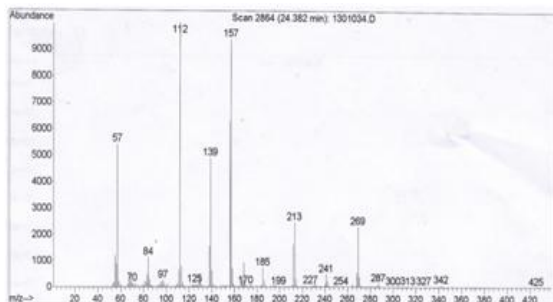
Gambar 8. Spektrum MS isolat CC_7 pada t_R 24,09



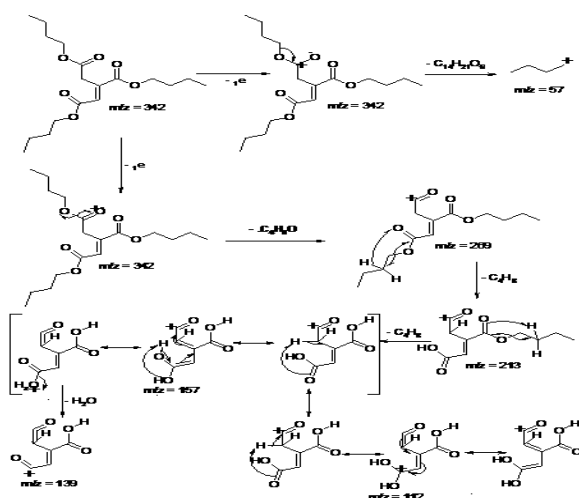
Gambar 9. Mekanisme fragmentasi molekul dari isolat CC_7 pada t_R 24,09

3.1.4. Analisis fragmentasi MS isolat CC_7 pada t_R 24,38

Massa ion molekul isolat CC_7 pada t_R 24,38, $m/z=342$. Fragmen ion molekulnya yaitu $m/z = 342, 269, 213, 157, 139, 112,$ dan 57 . Pola fragmentasi mirip *tributyl aconitate* dari library. Spektrum MS dan mekanisme fragmentasi pada gambar 10 dan 11.



Gambar 10. Spektrum MS isolat CC_7 pada t_R 24,38

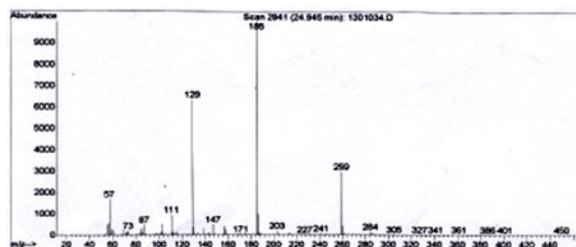


Gambar 11. Mekanisme fragmentasi molekul dari isolat CC_7 pada t_R 24,38.

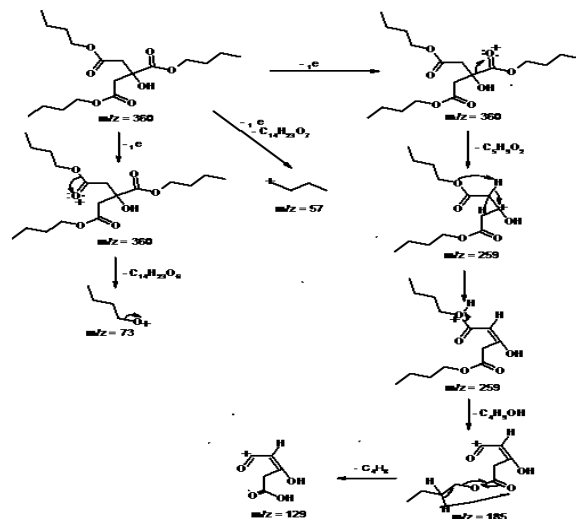
3.1.5. Analisis fragmentasi MS isolat CC_7 pada t_R 24,95

Massa ion molekul isolat CC_7 pada t_R 24,95, $m/z=360$. Fragmen ion molekulnya yaitu $m/z = 360, 256, 185, 129, 73,$ dan 57 dan polanya mirip *tributyl citrate* dari library.

Spektrum MS dan fragmentasinya dilihat pada gambar 12 dan 13.



Gambar 12. Spektrum MS isolat CC_7 pada t_R 24,95

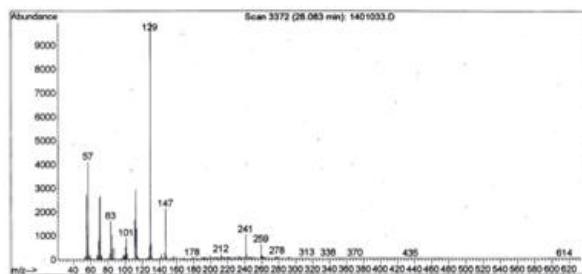


Gambar 13. Mekanisme fragmentasi molekul dari isolat CC_7 pada t_R 24,95

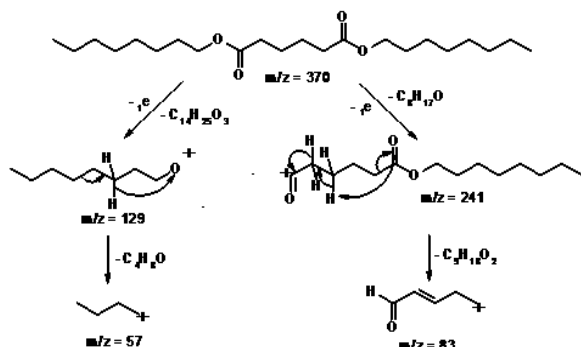
3.1.6. Analisis fragmentasi MS isolat CC_7 pada t_R 28,11

Massa ion molekul isolat CC_7 pada t_R 28,11 adalah $m/z=370$. Fragmen ion molekul yang terbentuk yaitu $m/z = 370, 241, 129, 83,$ dan 57 . Pola fragmentasinya memiliki

kemiripan dengan pola fragmentasi *dioctyl adipate* dari data library MS. Spektrum MS dan mekanisme fragmentasinya dapat dilihat pada Gambar 14 dan 15.



Gambar 14. Spektrum MS isolat CC_7 pada t_R 28,11

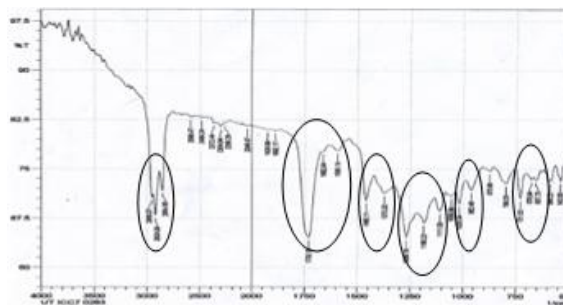


Gambar 15. Mekanisme fragmentasi molekul dari isolat CC_7 pada t_R 28,11

3.2. Analisis FTIR Isolat CC_7

Beberapa serapan pada spektrum FTIR (Gambar 16) yang mendukung keberadaan komponen lipofilik pada isolat CC_7. meliputi metil (-CH₃), metilen (-CH₂), metin

(=CH), karbonil (C=O), etilen (C=C), (C-C(O)-), (C-O), (C-C(O)-O) dan (C-O-C-C).



Gambar 16. Spektrum FTIR isolat CC_7

Pada spektrum FTIR terdapat tiga buah serapan kuat dibawah 3000 cm⁻¹ yaitu pada daerah bilangan gelombang 2956,87 cm⁻¹ (asym -CH₃); 2924,09 cm⁻¹ (asym -CH₂); 2854,65 cm⁻¹ (sym -CH₃) dengan bentuk pita serapan yang tajam dan menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H simetri dan asimetri. Keberadaan serapan pada 962,48 cm⁻¹ menunjukkan adanya serapan ulur (=C-H) dan didukung oleh serapan ulur (C=C) pada 1662,64 cm⁻¹ dan pita kembar serapan ulur cis -HC=CH- pada 678,94 cm⁻¹ dan 657,73 cm⁻¹. Serapan ulur yang tajam dengan intensitas kuat juga muncul pada bilangan gelombang 1730,15 cm⁻¹ mengindikasikan keberadaan gugus karbonil (C=O).

Munculnya puncak serapan gugus karbonil (C=O) didukung oleh kombinasi serapan ulur (C-O) pada $1269,16\text{ cm}^{-1}$, (C-C(O)-O) pada $1186,22\text{ cm}^{-1}$, (O-C-C) pada $1111,00\text{ cm}^{-1}$ dan (C-O-C) pada $1020,34\text{ cm}^{-1}$. Serapan tekuk metilen (-CH₂) dan metil (-CH₃) muncul pada $1460,11\text{ cm}^{-1}$ dan $1373,32\text{ cm}^{-1}$. Serapan lemah pada $731,02\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya 4 atau lebih gugus metilen (-CH₂-) yang mengalami tekukan (bending) rocking.

4. Simpulan

Melalui penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil analisis GC terhadap isolat CC_7 berupa cairan bening berminyak tak berwarna dengan berat 5,1 mg dan merupakan senyawa ester dan terpen yaitu *methyl palmitate*, *ethyl palmitate*, *ethyl oleate*, *tributyl aconitate*, *tributyl*

citrat, *tributyl acetil*, *dioctil adipate*, dan *squalene*.

2. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut didukung oleh serapan-serapan gugus fungsi IR yaitu serapan ulur asimetri pada : $2956,87$ (asym. -CH₃), $2924,09$ (asym. -CH₂), $2854,65$ (sym. -CH₃), $1730,15$ (C=O), $1662,64$ (C=C), $1595,13$ (C-C(O)), $1269,16$ (C-O), $1186,22$ (C-C(O)-O), $1111,00$ (O-C-C), $1020,34$ (C-O-C-C), $962,48$ (=C-H), $678,94$ dan $657,73$ (cis -HC=CH-), tekukan rocking (-CH₂-) pada $731,02$, tekukan (-CH₂) dan (-CH₃) pada $1460,11$ dan $1373,32$.

5. Ucapan terima kasih

Terimakasih kami ucapkan kepada DP2M DIKTI dan Dekan FMIPA Universitas Tanjungpura Pontianak atas dukungan dan fasilitas yang diberikan.

Daftar Pustaka

- Bhakuni, D.S. and Rawat, D.S., 2005, Bioactive Marine Natural Products, Anamaya, New Delhi.
- Dembitsky, V.M. and Tolstikov, G.A., 2003, Natural Halogenated Alkaloids, *Journal Chemistry for Sustainable Development*, 11: 451-466.
- Gordaliza, M., 2009, Terpenyl Purines from the Sea, *Journal Marine Drugs*, 7: 833-849.
- Hertiani, T.; Edrada-Ebel, R.; Ortlepp, S.; Van Soest, R.W.M.; De Voogd, N.J.; Wray, V.; Hentschel, U.; Kozytska, S.; Muller, W.E.G. and Proksch, P., 2010, New Cytotoxic Secondary Metabolites from Two Indonesian Agelas Sponges, *Journal Bioorganic and Medical Chemistry*, 18: 1297-1311.
- Tsuda, M.; Uemoto, H. and Kobayashi, J., 1999, Slagenins A-C Novel Bromopyrole Alkaloids from Marine Sponge *A. nakamurai*, *Journal Tetrahedron Letters*, 40: 5709-5712.