

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETIL ASETAT SPONS *PETROSIA* SP. DAN AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE FROM ETHYL ACETATE EXTRACT OF *PETROSIA* SP. AND ITS ANTI-OXIDANT ACTIVITY

Muhammad Hajrul Malaka^{1*}, Hartina¹, Adryan Fristiohady¹, Baru Sadarun², I. Sahidin¹

1. Pharmacy Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari 93232
2. Marine Science Department, Faculty of Fisheries and Marine Science, Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari 93232

*Corresponding author
Muhammad Hajrul Malaka

Email:
mhmalaka@uho.ac.id

ABSTRAK

Spons adalah suatu biota laut yang memiliki kandungan kimia dengan potensi aktivitas farmakologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etil asetat spons *Petrosia* sp. dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pemisahan senyawa dilakukan dengan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Kolom Vakum (KKV), dan Kromatografi Radial (KR). Senyawa hasil isolasi diidentifikasi dengan teknik spektroskopi ¹H dan ¹³C NMR serta 2D NMR (HMQC dan HMBC). Uji antioksidan dilakukan DPPH dan ABTS. Senyawa yang berhasil diidentifikasi ialah 6-hydroxy-1,3,7-trimethyl-3,5-dihydro-1-himidazo[4,5-c]piridine-2,4-dione, yang merupakan golongan alkaloid. Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dan ABTS menunjukkan ekstrak aktif sebagai antioksidan berturut-turut sebesar IC₅₀ 27,20 µg/mL dan 27,53 µg/mL, sedangkan senyawa hasil isolasi tidak aktif terhadap radikal DPPH maupun ABTS dengan nilai IC₅₀ yang sama pada 242,64 µg/mL. Vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai IC₅₀ 21,51 µg/mL terhadap DPPH serta 22,21 µg/mL terhadap radikal ABTS.

Kata kunci: Petrosia, antioksidan, isolasi, elusidasi

ABSTRACT

Sponges are marine organism that contain various chemical compound with potential pharmacological activities. This study aims to isolate and identify secondary metabolites from ethyl acetate extract of *Petrosia* sp. and its antioxidant properties. Extraction was performed by maceration using ethyl acetate. Isolation methods were carried out using Thin Layer Chromatography (TLC), Vacuum Liquid Chromatography (VLC), and Radial Chromatography (RC) technique. Isolated compound was identified by 1D-NMR (¹H and ¹³C NMR) and 2D-NMR (HMQC and HMBC). Antioxidant assay was determined by its activity against ABTS radical. Isolated compound identified as an alkaloid namely 6-hydroxy-1,3,7-trimethyl-3,5-dihydro-1-Himidazo [4,5-c] piridine -2,4-dione. Antioxidant activity test showed *Petrosia* sp. extract was active as antioxidant with IC₅₀ values 27,20 µg/mL against DPPH and 27,53 µg/mL against ABTS, whereas isolated compound was inactive against DPPH and ABTS with IC₅₀ values 242,64 µg/mL. Meanwhile, Vitamin C was very active against DPPH and ABTS with IC₅₀ 21,51 µg/mL and 22,21 µg/mL, respectively.

Keywords: Petrosia, antioxidant, isolation, elucidation

1. PENDAHULUAN

Sulawesi Tenggara memiliki pesisir dengan potensi sumber daya yang sangat melimpah seperti ekosistem terumbu karang (Rahman et al., 2020). Spons merupakan organisme laut invertebrata yang berasal dari filum porifera. Spons sebagai salah satu hewan primitif yang hidup menetap dan bersifat filter feeder (menyaring makanan). Hewan tersebut memberikan sumbangan

yang penting terhadap komunitas bentik laut dan sangat umum dijumpai di perairan tropik dan sub tropik. Sebarannya mulai dari zona intertidal hingga zona subtidal pada suatu perairan (Haedar et al., 2016). Spons diketahui memiliki banyak senyawa aktif yang mempunyai potensi sebagai obat-obatan (Sadarun et al., 2017, 2018; Sahidin et al., 2018)

Genus *Petrosia* merupakan salah satu jenis spons yang tingkat kemunculannya tinggi khususnya jenis di perairan Sulawesi Tenggara (Rahman et al., 2020). Potensi pengembangan *Petrosia sp.* sebagai bahan obat sangat potensial, dimana genus *Petrosia* itu sendiri merupakan penghasil senyawa polyacetylenes, steroid, alkaloid, poliketida, dan terpenoid (Abdel-Lateff et al., 2014) dengan aktivitas biologi antara lain antivirus dan antibakteri (Handayani et al., 2011), bersifat sitotoksik terhadap sel kanker (Kurnianda et al., 2019; Pailee et al., 2017; Nhiem et al., 2013; Hitora et al., 2011), dan antiinflamasi (Fristiohady et al., 2021). Senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, senyawa fenol, steroid, dan terpenoid yang dikandung oleh spons diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Handayani et al., 2012).

Banyak penelitian sebelumnya yang berfokus pada penelitian spons laut di berbagai aspek aktivitas, bioaktivitas spons *Petrosia sp.* sebagai antioksidan khususnya yang tumbuh di perairan Sulawesi Tenggara masih sangat minim. Berdasarkan hal tersebut maka spons memiliki potensi untuk dijadikan sebagai antioksidan alami dan menambah referensi daftar jenis bahan obat alam baru dan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

2. METODE

Penyiapan Sampel dan Ekstraksi

Pengambilan sampel spons *Petrosia sp.* dilakukan di daerah perairan Kecamatan Soropia Kabupaten Konawe (-3.887256728458916, 122.61310585524622) pada daerah tubir karang (*Reef slope*) dengan kemiringan 70° mengikuti kontur sejajar garis pantai. Spons diambil dari perairan pada kedalaman yang sama menggunakan peralatan selam (SCUBA) dari kedalaman 10 meter. Spons yang telah diperoleh segera dimasukkan ke dalam *box* yang telah diisi dengan es batu. Sampel spons yang telah dikumpulkan kemudian dicuci dan dibersihkan dari kotoran atau hewan-hewan laut yang menempel lalu dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dilakukan maserasi menggunakan pelarut aseton selama 3×24 jam di dalam wadah tertutup. Filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacum evaporator* (Büchi, Switzerland) hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dimaserasi ulang dengan teknik yang sama menggunakan etil asetat untuk memisahkan sisa garam dan air, dan diperoleh ekstrak etil asetat sebanyak 22 gram.



Gambar 1. Spons *Petrosia sp.*

Isolasi

Sebanyak ekstrak dipisahkan dengan kromatografi cair vakum (22 g, Φ 13,5 cm, fase diam Si-Gel 150 g) dengan fase gerak yang ditingkatkan kepolarannya (*n*-heksana:etilasetat, metanol), menghasilkan 21 fraksi yang selanjutnya dikelompokkan ke dalam 8 fraksi. Fraksi 4 dipisahkan

lebih lanjut menggunakan kromatografi radial (Φ 5 cm, fase diam Si-gel 80 g) dengan fase gerak *n*-heksana, etilasetat, dan metanol. (10-100%, MeOH 100%) menghasilkan 4 fraksi gabungan. Pemurnian sub-fraksi 4 menggunakan kromatografi radial (KR), fase diam Si-gel PF₂₅₄, fase gerak *n*-heksana:etilasetat (80:20%) dan *n*-heksana:kloroform (80%:20%) menghasilkan padatan berwarna kuning sebanyak 50 mg.

Identifikasi

Senyawa dalam bentuk padatan kuning dengan rumus molekul C₉H₁₁N₃O₃ (DBE=6). Spektrum 1H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 2.45 (3H, s); 2.54 (3H, s); 2.28 (3H, s). Spektrum ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 Hz): 189.7; 111.6; 152.9; 191.3; 118.2; 130.0; 25.6; 28.9; 8.7.

Uji Aktivitas Antioksidan (Clarke et al., 2013)

Sebanyak 100 μ L larutan sampel (konsentrasi 400 μ g/mL dalam DMSO) dimasukkan ke dalam sumuran dan kemudian ditambahkan 100 μ L larutan DPPH (konsentrasi 0,2 mM dalam DMSO). Campuran sampel dan DPPH kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam keadaan gelap dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian dikoreksi terhadap absorbansi blanko yang merupakan absorbansi sampel 100 μ L dan pelarut DMSO 100 μ L. Kontrol pada pengujian ini adalah larutan DPPH 100 μ L dan pelarut DMSO 100 μ L. Nilai yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung persentase penghambatan menggunakan persamaan:

$$\% \text{Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

nilai IC₅₀ menggunakan dua kali seri pengenceran pada konsentrasi 200-1,5625 μ g/mL. menggunakan vitamin C digunakan sebagai kontrol positif.

Pada pengujian menggunakan metode ABTS, sebanyak 100 μ L larutan sampel (400 μ g/mL dalam DMSO) dimasukkan ke dalam sumuran plat mikro dan kemudian ditambahkan 100 μ L larutan ABTS. Campuran sampel dan ABTS kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruangan dalam keadaan gelap dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian dikoreksi terhadap absorbansi blanko yang merupakan absorbansi sampel (100 μ L) dan pelarut DMSO (100 μ L). Kontrol pada pengujian ini adalah larutan ABTS (100 μ L) dan pelarut DMSO (100 μ L). Nilai yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung % penghambatan menggunakan persamaan yang sama dengan uji DPPH. Sampel uji yang menunjukkan aktivitas antioksidan dengan % penghambatan di atas 50% kemudian ditentukan nilai IC₅₀ menggunakan dua kali seri pengenceran pada konsentrasi 200-1,5625 μ g/mL. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian ini. Nilai IC₅₀ ditentukan menggunakan Graphpad Prism 8 (Graphpad Software[®], La Jolla, Canada, USA).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengkajian kandungan senyawa metabolit sekunder spons *Petrosia* sp. dilakukan dengan mengisolasi senyawa yang terkandung dari spons dan menguji aktivitas isolat tersebut sebagai antioksidan. Secara umum, kegiatan penelitian ini terdiri atas tahapan isolasi, identifikasi dan pengujian aktivitas isolat. Spons diperoleh dalam keadaan segar pada daerah tubir karang (*Reef Slope*) dengan kemiringan 70^o mengikuti kontur sejajar garis pantai pada kedalaman 10 meter dengan menggunakan peralatan selam *Self Contained Underwater Breathing Apparatus* (SCUBA).

Isolasi dan Identifikasi

Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan aseton dan etilasetat untuk memisahkan sisa garam yang terkandung. Rendemen diperoleh sebanyak 10,2% dengan berat ekstrak 22 g. Pemisahan dan pemurnian dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu tahappemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Kolom Vakum(KKV), dan Kromatografi Radial (KR). Optimasi eluen dilakukan sebelum pemisahan senyawa menggunakan guna mencari sistem eluen yang mampu memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak dengan baik, sekaligus untuk mengetahui profil pemisahannya.

Senyawa diperoleh dalam bentuk padatan kuning berminyak. Senyawa ini muncul sebagai bercak berwarna hitam di bawah sinar UV 254 nm, bercak kuning dibawah sinar UV 366 nm, dan bercak hitam setelah diderivatisasi menggunakan serum sulfat diikuti dengan pemanasan. Berdasarkan hasil spektum ^1H dan ^{13}C NMR senyawa ini memiliki rumus molekul $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ dengan jumlah DBE (*Double Bond Equivalent*) 6. Spektum ^1H -NMR menunjukkan 4 puncak sinyal (tidak termasuk pelarut) yang mewakili 11 proton. Satu sinyal proton pada δ 9.02 terintegrasi dua proton dengan multiplisitas singlet diduga merupakan sinyal satu proton hidroksil (OH) yang terikat pada cincin dan satu proton yang terikat pada atom N dalam cincin. Tiga sinyal berintegrasi tiga proton dengan multiplisitas singlet diamati pada δ_{H} 2.54 (H-10); 2.45 (H-11); 2.28 (H-12) merupakan proton metil (CH_3).

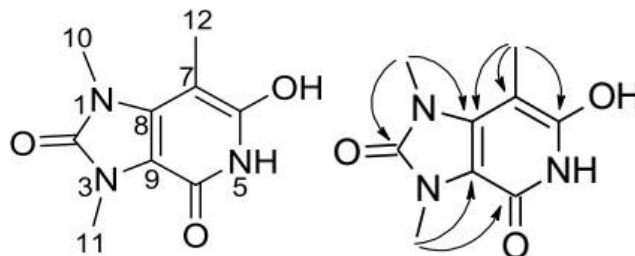
Spektum ^{13}C -NMR menunjukkan 9 puncak sinyal yang mewakili 9 karbon. Sebanyak 6 puncak karbon kuartener diamati pada δ_{C} 191.3 (C-4); 189.7 (C-2); 152.9 (C-6); 130.0 (C-8); 118.2 (C-9); dan 111.6 (C-7) ppm. Karbon kuartener yang muncul pada δ_{C} 191.3 (C-4) dan 189.7 ppm (C-2) merupakan ciri khas karbon untuk gugus karbonil terisolasi. Sementara itu, karbon kuartener pada δ_{C} 152.9 (C-6) diduga merupakan karbon ikatan rangkap dua ($\text{C}=\text{C}$) pada cincin yang mengikat gugus hidroksil ($-\text{OH}$). Selain itu, karbon kuartener pada δ_{C} 130.0 (C-8); δ 118.2 (C-9) dan 111.6 ppm (C-7) diduga merupakan karbon ikatan rangkap dua ($\text{C}=\text{C}$) yang membentuk satu cincin dalam struktur senyawa. Selanjutnya, spektrum juga memperlihatkan 2 resonansi karbon metil pada δ_{C} 28.9 (C-10) dan 25.6 (C-11) yang menjadi ciri khas metil yang terikat pada atom N. Resonansi karbon metil yang berikatan dengan karbon ikatan rangkap dua ($\text{C}=\text{C}$) dalam cincin juga telah diamati pada δ_{C} 8.7 (C-12).

Korelasi antara karbon dan proton di atas dianalisis menggunakan 2D-NMR(HMQC dan HMBC) yang berfungsi untuk memvalidasi struktur senyawa. Data hasil analisis HMQC menunjukkan hubungan antara proton dan karbon dalam satuikatan (1J). Sedangkan melalui HMBC dapat diketahui hubungan proton karbon dengan jarak dua sampai empat ikatan (2J , 3J , dan 4J). Data korelasi HMQC dan HMBC disajikan dalam [Tabel 1](#).

Tabel 1. Data 1D dan 2D NMR senyawa (satuan dalam ppm, diukur pada 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C) dalam CDCl_3 , δ TMS=0)

Nomor C	HMQC		HMBC (H→C)
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	
2	189.7	–	
4	111.6	–	
5	152.9	–	
7	191.3	–	
8	118.2	–	
9	130.0	–	
10	25.6	2.45 (3H, s)	C-7 (4J), C-8 (3J)
11	28.9	2.54 (3H, s)	C-2 (3J), C-9 (3J)
12	8.7	2.28 (3H, s)	C-4 (2J), C-5 (3J), C-9 (3J)

Korelasi HMQC menunjukkan bahwa C-10 (δ 28.9) berikatan langsung (1J) dengan H-10 (δ 2.54, s), C-11 (δ 25.6) berikatan dengan H-11 (δ 2.45, s) dan C-12 (δ 8.7) berikatan dengan H-12 (δ 2.28, s). Data korelasi HMBC menunjukkan bahwa H-10 (δ 2.54, s) berkorelasi 3J CH dengan karbon kuartener (C-2; δ 189.7) dan karbon kuartener (C-8; δ 130.0). Korelasi HMBC juga menunjukkan hubungan 4J CH antara H-11 (δ 2.45, s) dengan karbon kuartener (C-4; δ 191.3) dan 3J CH dengan karbon kuartener (C-9; δ 118.2). Selain itu, proton H-12 (δ 2.28, s) memiliki korelasi 2J CH dengan karbon kuartener (C-7; δ 111.6) dan korelasi 3J CH dengan karbon kuartener (C-6; δ 152.9 dan C-8; δ 130.0). Korelasi-korelasi ini mengindikasikan bahwa metil H-10, H-11, dan H-12 terikat pada sistem heterosiklik dalam struktur.

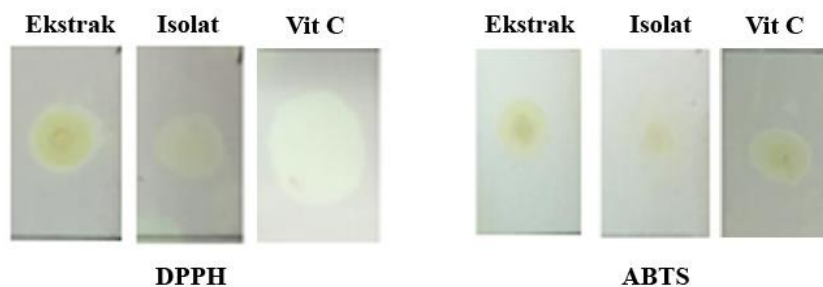


Gambar 2. Korelasi HMQC dan HMBC

Perbandingan antara data spektrum $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ serta korelasi HMQC dan HMBC menunjukkan bahwa senyawa M3 diprediksi sebagai senyawa dengan nama IUPAC 6-hydroxy-1,3,7-trimethyl-3,5-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridine-2,4-dione.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji kualitatif antioksidan dilakukan dengan pendekatan semi kuantitatif dimana diameter dan intensitas dari noda putih kekuningan pada plat latar ungu yang terbentuk dapat diketahui tergantung dari konsentrasi larutan yang digunakan. Uji kualitatif bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antioksidan dari sampel. Teknik pengerjaannya ialah dengan mencelupkan (*dipping technique*) plat KLT yang telah ditotolkan analit ke dalam radikal bebas yang telah dilarutkan dalam metanol dimana noda yang terbentuk dapat ditentukan aktivitasnya (Badarinath et al., 2010).



Gambar 3. Hasil uji kualitatif antioksidan terhadap DPPH dan ABTS

Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak *Petrosia* sp dan isolat memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai dengan adanya spot noda kuning pucat pada visualisasi sinar tampak pada plat. Perubahan warna yang terjadi diakibatkan adanya reaksi peredaman (reduksi) radikal oleh senyawa melalui mekanisme donasi elektron atau hidrogen sehingga akan dihasilkan bentuk non radikal (Molyneux, 2004).

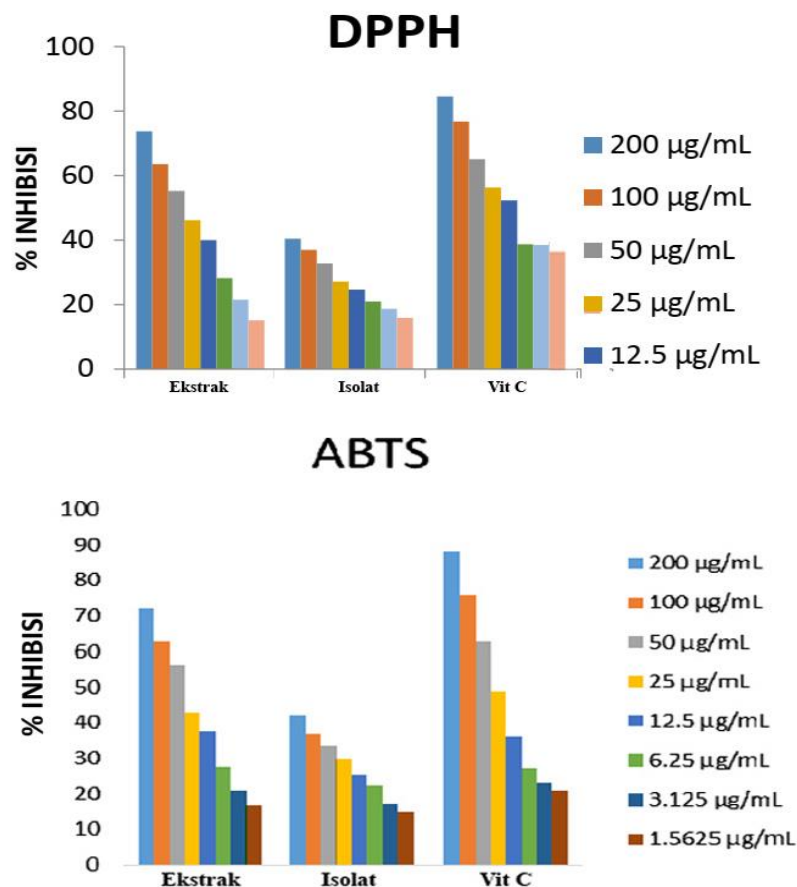
Tabel 2. Nilai % Inhibisi dan IC₅₀ sampel uji terhadap radikal DPPH dan ABTS

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	DPPH		ABTS	
		%I	IC ₅₀ (µg/mL)	%I	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak	200,0000	73,71 ± 1,7	27,20	72,01 ± 0,07	25,73
	100,0000	63,54 ± 2,3		62,75 ± 0,10	
	50,0000	55,29 ± 0,2		55,94 ± 0,18	
	25,0000	46,15 ± 1,7		42,65 ± 0,63	
	12,5000	39,96 ± 1,6		37,3 ± 0,19	
	6,2500	28,19 ± 0,2		27,45 ± 0,87	
	3,1250	21,47 ± 0,9		20,73 ± 0,27	
	1,5625	15,06 ± 1,2		16,73 ± 0,22	
Isolat	200,0000	41,43 ± 1,42	242,64	41,43 ± 1,42	242,64
	100,0000	36,98 ± 0,15		36,98 ± 0,15	
	50,0000	32,71 ± 0,45		32,71 ± 0,45	
	25,0000	27,10 ± 0,56		27,10 ± 0,56	
	12,5000	24,58 ± 0,10		24,58 ± 0,10	
	6,2500	20,97 ± 0,56		20,97 ± 0,56	
	3,1250	18,63 ± 0,02		19,25 ± 0,87	
	1,5625	15,89 ± 0,15		19,01 ± 0,99	
Vitamin C	200,0000	84,79 ± 0,13	21,51	88,05 ± 0,16	26,52
	100,0000	73,38 ± 0,10		75,95 ± 0,27	
	50,0000	61,45 ± 0,13		63,01 ± 0,21	
	25,0000	50,93 ± 0,11		48,60 ± 0,13	
	12,5000	42,30 ± 0,18		36,12 ± 0,12	
	6,2500	29,94 ± 0,06		27,32 ± 0,25	
	3,1250	23,12 ± 0,25		22,43 ± 0,22	
	1,5625	15,11 ± 0,20		20,81 ± 0,22	

%I* Rata-rata % inhibisi ± SD (n = 6).

Uji kuantitatif antioksidan dilakukan pada ekstrak, isolat dan vitamin C sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan secara kuantitatif dapat diperoleh melalui pengamatan perubahan warna/dekolorisasi dengan memantau absorbansinya pada panjang gelombang optimum DPPH, yaitu 540 nm dalam pelarut DMSO (Clarke et al., 2013) dan panjang gelombang optimum ABTS yaitu 734 nm (Vifta et al., 2019). Uji kuantitatif antioksidan dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (Dewi et al., 2014) atau yang dikenal dengan IC₅₀. Nilai ini merupakan nilai konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas dimana nilai ini diperoleh melalui ekstrapolasi dari analisis regresi linear. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa, semakin besar kemampuan senyawa tersebut untuk menangkal radikal bebas.

Hasil uji kuantitatif memperlihatkan peredaman radikal bebas meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi senyawa yang diujikan (1,5625-200 µg/mL). Nilai IC₅₀ sampel uji yang memiliki % inhibisi lebih dari 50% ditentukan menggunakan Graphpad Prism 8. Jika nilai % inhibisi tidak mencapai 50% maka ditentukan menggunakan regresi linear. Ekstrak dan isolat mengalami penurunan penghambatan pada konsentrasi 200 µg/mL diduga karena adanya gugus kromofor pada struktur senyawa dimana nilai absorbansi akan menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi.



Gambar 4. Persen penghambatan sampel uji terhadap radikal DPPH dan ABTS

Ekstrak memiliki nilai IC_{50} mendekati Vitamin C. Kuatnya aktivitas ekstrak diduga karena ekstrak merupakan campuran dari beberapa senyawa aktif dan bekerja secara sinergis dalam mereduksi radikal. Vitamin C (asam askorbat) merupakan golongan antioksidan yang dapat langsung bereaksi menangkal radikal dengan mendonorkan elektronnya kepada radikal. Vitamin C memiliki kemampuan yang baik dalam menangkal radikal bebas karena adanya struktur aromatik dengan gugus hidroksil (OH) dalam molekulnya. Struktur tersebut memungkinkan vitamin C menjadi donor atom hidrogen yang baik. Setiap satu molekul asam askorbat mampu mengurangi dua molekul DPPH melalui pelepasan dua atom hidrogen dari gugus hidroksil yang terikat pada gugus alkena pada cincin struktur asam askorbat yang kemudian membentuk senyawa dehidroaskorbat (Brand-Williams et al., 1995).

Pendekatan struktur menyatakan bahwa senyawa yang memiliki sebuah atau beberapa (OH) dapat menghambat oksidasi dan menangkap senyawa-senyawa radikal bebas yang merusak sel. Antioksidan berfungsi sebagai reduktor, mudah mengalami oksidasi oleh radikal bebas karena mempunyai ikatan rangkap dan dengan adanya gugus hidroksil yang terikat pada ikatan rangkap tersebut dimana radikal bebas akan mengambil atom hidrogen dan menyebabkan terbentuknya radikal oksigen yang selanjutnya akan didelokalisasi melalui resonansi sehingga menghasilkan non radikal yang stabil. Senyawa isolat diduga memiliki kromofor (*dye*) dan gugus OH pada cincin aromatik yang berperan penting dalam aktivitasnya sebagai antioksidan. Secara umum, adanya cincin aromatik dengan gugus hidroksil memberikan aktivitas penangkal radikal (Yamin et al., 2020)

4. KESIMPULAN

Isolat yang diperoleh dari spons *Petrosia* sp diidentifikasi sebagai senyawa alkaloid dengan nama IUPAC 6-hydroxy-1,3,7-trimethyl-3,5-dihydro-1-himidazo[4,5-c] piridine-2,4-dione yang aktif sebagai antioksidan secara kualitatif.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Dirjen Dikti atas pendanaa penelitian ini melalui Skim Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi 2019

6. KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan yang saling berkaitan.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Lateff, A., Alarif, W. M., Asfour, H. Z., Ayyad, S. E. N., Khedr, A., Badria, F. A., & Al-lihaibi, S. (2014). Cytotoxic effects of three new metabolites from Red Sea marine sponge, *Petrosia* sp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(3), 928–935. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.03.005>
- Badarinath, A. V., Rao, K. M., Madhu, C., Chetty, S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., & Gnanaprakash, K. (2010). A Review on *in-vitro* antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276–1285. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=383951>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Clarke, G., Ting, K. N., Wiart, C., & Fry, J. (2013). High Correlation of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging, Ferric Reducing Activity Potential and Total Phenolics Content Indicates Redundancy in Use of All Three Assays to Screen for Antioxidant Activity of Extracts of Plants from the Malaysian Rainforest. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX2010001>
- Dewi, N. W. O. A. C., Puspawati, N. M., Swantara, I. M. D., Asih, I. A. R. A., & Rita, W. S. (2014). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia*, 2(1), 7–16. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/cakra/article/view/9002/6781>
- Fristiohady, A., Malaka, M. H., Safitri, A. R. W., Diha, D., Saripuddin, Julian Purnama, L. O. M., Rahman, S., Yodha, A. W. M., Munasari, D., Sadarun, B., & Sahidin, I. (2021). Anti-Inflammatory Activity of Ethanol Extract of Marine Sponge *Petrosia* Sp. by Suppression the Level of Tumor Necrosis Factor-alpha. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(8), 4435-4439. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.00770>
- Haedar, H., Sadarun, B., & Palupi, R. D. (2016). Potensi Keanekaragaman Jenis dan Sebaran Spons di Perairan Pulau Saponda Laut Kabupaten Konawe. *Sapa Laut*, 1(9), 1–9. <http://ojs.uho.ac.id/index.php/jsl>
- Handayani, D., Handayani, C., & Krisyanella, K. (2012). Isolasi Senyawa Kimia Utama dari Fraksi Aktif Sitotoksik Spon Laut *Petrosia* sp (MN05). *Jurnal Farmasi Higea*, 4(1), 24–30.
- Handayani, D., Sayuti, N., Dachriyanus, D., & van Soest, R. W. M. (2011). Epioksi Sterol , Senyawa Antibakteri dari Spon Laut *Petrosia nigrans*. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(6), 289–293. https://www.researchgate.net/publication/282946738_Epidioksi_Sterol_Senyawa_Antibakteri_dari_Spon_Laut_Petrosia_nigrans
- Hitora, Y., Takada, K., Okada, S., Ise, Y., & Matsunaga, S. (2011). (-)-Duryne and its homologues, cytotoxic acetylenes from a marine sponge *Petrosia* sp. *Journal of Natural Products*, 74(5), 1262–1267. https://doi.org/10.1021/NP200271N/SUPPL_FILE/NP200271N_SI_001.PDF
- Kurnianda, V., Ramadhan, M. R., Karina, S., Agustina, S., Octavina, C., Ulfah, M., Syahliza, F., Faradilla, S. B., Putra, D. F., Purnawan, S., & Musman, M. (2019). The inhibitor of human bladder epithelial cancer cells from Indonesian marine sponge of *Petrosia* sp. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 348(1), 1–5. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/348/1/012025>
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) For Estimating

- Anti-oxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(May), 1–10.
- Nhiem, N. X., Quang, N. Van, Minh, C. Van, Hang, D. T. T., Anh, H. L. T., Tai, B. H., Yen, P. H., Hoai, N. T., Thung, D. C., & Van Kiem, P. (2013). Biscembranoids from the marine sponge *Petrosia nigricans*. *Natural Product Communications*, 8(9), 1209–1212. <https://doi.org/10.1177/1934578x1300800905>
- Pailee, P., Mahidol, C., Ruchirawat, S., & Prachyawarakorn, V. (2017). Sterols from Thai Marine Sponge *Petrosia* (*Strongylophora*) sp. and Their Cytotoxicity. *Marine Drugs*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/MD15030054>
- Rahman, S. R., Sadarun, B., & Rahmadani, R. (2020). Sponge Community Structure in Lalanu Seawaters, Soropia of Southeast Sulawesi. *Sapa Laut*, 5(3), 183–192.
- Sadarun, B., Malaka, M. H., Wahyuni, W., & Sahidin, S. (2017). Toksisitas Akut Senyawa Metabolit Sekunder dari Spons Laut *Clathria* sp. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 3(1), 6–9. <http://ojs.uho.ac.id/index.php/pharmauho/article/view/3445/2599>
- Sadarun, B., Malaka, M. H., Wahyuni, W., & Sahidin, S. (2018). Senyawa Steroid Spons *Xestospongia* sp. dari Perairan Sulawesi Tenggara. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 4(1), 26–29. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v4i1.4628>
- Sahidin, I., Sabandar, C. W., Wahyuni, W., Hamsidi, R., Malaka, M. H., Sadarun, B., & Aslan, L. O. (2018). A-nor steroids from the marine sponge, *Clathria* species. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 22(3), 375–382. <https://doi.org/10.17576/mjas-2018-2203-02>
- Vifta, R., Wilantika, W., & Advistasari, Y. D. (2019). Study in Vitro of Antioxidant Potency and Antidiabetic Activity of Ethyl Acetate Fraction of Parijoto Fruit (*Medinilla speciosa* B.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 12(2), 93–102. <https://doi.org/10.22435/jtoi.v12i2.1160>
- Yamin, Ruslin, Sartinah, A., Ihsan, S., Kasmawati, H., Suryani, Andriyani, R., Asma, Adjeng, A. N. T., & Arba, M. (2020). Radical scavenging assay and determination flavonoid and phenolic total of extract and fractions of Raghu bark (*Dracontomelon dao* (blanco) merr). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(5), 2335–2339. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00420.5>