



**Andi Setiawan  
John Hendri**

# **SENYAWA BIOAKTIF SPONS:**

## **Struktur dan Bioaktivitas**



Penerbit :  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung  
Tahun 2022

# SENYAWA BIOAKTIF SPONS: Struktur dan Bioaktivitas



# SENYAWA BIOAKTIF SPONS:

Struktur dan Bioaktivitas

Andi Setiawan  
John Hendri



Penerbit :  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung

# SENYAWA BIOAKTIF SPONS:

## Struktur dan Bioaktivitas

Penulis :

Andi Setiawan  
John Hendri

ISBN : 978-602-98559-4-4

Tata letak :  
Ikhman Alhakki  
Fendi Setiawan

Penerbit :  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung

Redaksi :  
Jalan Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro Nomor 1 Bandar  
Lampung 35145  
Email : [badan.penerbit@fmipa.unila.ac.id](mailto:badan.penerbit@fmipa.unila.ac.id)  
Telp. : 082176666202  
[Http://fmipa.unila.ac.id](http://fmipa.unila.ac.id)

Cetakan pertama : Januari 2022

ISBN 978-602-98559-4-4



## PRAKATA

**S**enyawa bioaktif spons merupakan buku referensi yang ditulis dari hasil rangkaian penelitian senyawa bioaktif terkait potensi sponge khususnya yang ada diperairan Indonesia. Buku ini ditulis untuk staf pengajar dan mahasiswa S1 maupun mahasiswa pascasarjana yang sudah mengikuti matakuliah kimia organik dan sedang menyelesaikan tugas akhir dibidang kimia bahan alam. Secara umum buku teks sudah banyak diterbitkan dalam bidang kimia organik dan sintesis organik tingkat lanjut, namun melihat kebutuhan maka buku reference ini dapat menjembatani kesenjangan antara teori dasar kimia dengan aplikasinya dalam penelitian.

Tujuan penulisan buku ini adalah untuk memberikan pemahaman bagi mahasiswa sarjana kimia atau pascasarjana mengenai teknik pengembangan potensi sumber daya laut berbasis senyawa bioaktif. Buku ini disusun dalam lima bagian yang membahas beberapa jenis senyawa bioaktif laut terkait pembuktian untuk kebaharuan struktur senyawa bahan alam dan kajian yang dilakukan terkait sifat bioaktif.

Pembahasan sebagian besar terkait dengan senyawa bahan alam yang di isolasi dari perairan Indonesia. Bab 1 membahas tentang senyawa perkembangan senyawa bahan alam laut di Indonesia. Selanjutnya pada Bab 2 akan dibahas senyawa terpenoid dan steroid. Pada Bab 3 membahas senyawa alkaloid. Pada Bab 4 membahas senyawa Poliketida dan pada Bab 5 akan di bahas terkait senyawa peptida.

Secara keseluruhan pembahasan dalam buku ini membahas secara singkat topik yang berkaitan dengan analisis struktur baru dan potensinya sebagai senyawa bioaktif yang mungkin

ditemui dalam kegiatan pencarian senyawa obat baru. Dalam buku ini dibahas juga mengenai beberapa mekanisme kerja senyawa bioaktif dan teknik pendekatan sintesis senyawa bahan alam yang di rasakan mungkin akan dibutuhkan bagi mahasiswa.

Dengan terbitnya buku referensi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Tim peneliti dari Graduate School of Pharmaceutical Sciences Prof. Motomasa Kobayashi, Prof. Shunji Aoki dan Prof Masayoshi Arai. Serta Peneliti dari University of the Ryukyus Prof. Junichi Tanaka, Dr. Agus Trianto Universitas Diponegoro serta para teman sejawat dan mahasiswa yang secara langsung dan tidak langsung terlibat dalam penulisan buku ini. Tak lupa penulis juga mengucapkan terimakasih kepada pimpinan Universitas Lampung yang telah mendukung kegiatan ini.

Bandar Lampung, Januari 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Sejarah pencarian senyawa bahan alam laut .....	1
1.2 Keanekaragaman biota laut sumber senyawa bioaktif.....	4
1.3 Senyawa bioaktif spons perairan Indonesia.....	9
Daftar Pustaka	13
BAB 2 TERPENOID DAN STEROID	16
2.1 Agosterol.....	17
2.2 Isomargaritan.....	20
2.3 Desidiamine	22
Daftar Pustaka	25
BAB 3 ALKALOID	28
3.1 Corstistatin.....	28
3.2 Aaptamin .....	32
3.3 Haliclamine.....	36
Daftar Pustaka	39
BAB 4 POLIKETIDA	41
4.1 Bitungolide.....	41
4.2 Manadodioxan.....	44
4.3 Biakamide.....	46
Daftar Pustaka	50
BAB 5 POLIPEPTIDA	52
5.1 Barangamide.....	53
5.2 Kendariamide.....	58
5.3 Stylissamide X.....	60
Daftar Pustaka	64
PENUTUP	67
GLOSARI	68



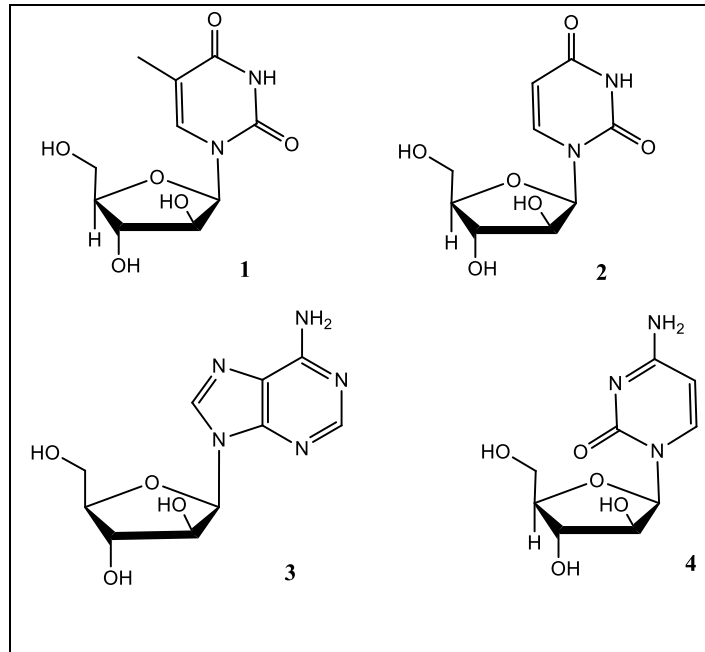
# BAB 1. PENDAHULUAN

## 1.1 Sejarah pencarian senyawa bahan alam laut

Manusia telah lama memanfaatkan potensi sumber daya alam dalam upaya memenuhi kebutuhan obat-obatan untuk mengatasi berbagai jenis penyakit. Pemanfaatan sumber daya alam sebagai sumber obat-obatan secara tradisional (misalnya jamu-jamuan) telah memainkan peran penting dalam kehidupan manusia selama ribuan tahun. Berbagai jenis tanaman obat dimanfaatkan secara terapeutik untuk pengobatan gangguan kronis, seperti kanker, malaria, diabetes, radang sendi, gangguan hati, jantung dll. Sejalan dengan kebutuhan zaman, mengandalkan sumber daya tanaman saja untuk tujuan pengobatan penyakit yang baru teridentifikasi tidaklah memadai. Selain itu, ketersediaan musiman serta faktor sosial-politik lainnya sering kali membatasi beberapa spesies tanaman langka untuk di kaji secara komprehensif. Mempertimbangkan hal tersebut maka para peneliti berupaya mencari sumber baru dari laut.

Berdasarkan perspektif sejarah, produk laut tertua adalah pewarna ungu Tyrian yang diekstraksi dari moluska laut oleh Fenisia sekitar 1600 SM. Untuk waktu yang lama, bidang bahan alam laut terbatas pada senyawa metabolit dari ikan dan ganggang laut. Contoh senyawa yang masih dimanfaatkan hingga saat ini adalah biopolimer laut seperti agar dan karagenan, serta beberapa senyawa lain seperti vitamin A dan D dari minyak hati ikan atau asam lemak tak jenuh ganda seperti asam eikosapentanoat dan asam dokosaheksanoat.

Terobosan sebenarnya dalam penemuan obat baru datang bersamaan dengan penemuan spongothymidine (**1**) dan spongouridine (**2**) pada tahun 1950-an dari spons perairan Karibia *Tethya crypta* [Bergmann and Feeney, 1950; Bergmann and Feeney, 1951].

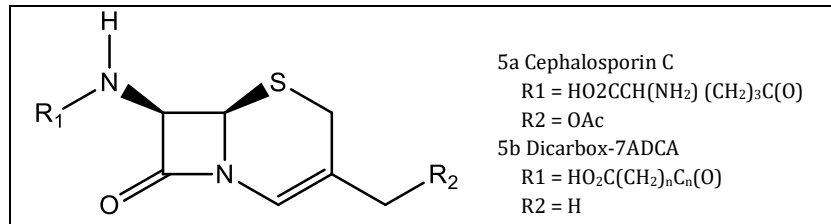


**Gambar 1.** Beberapa senyawa aktif nuklesida

Nukleosida tersebut menjadi dasar untuk sintesis ara-A (**3**), obat antivirus dan ara-C (**4**), senyawa antikanker turunan laut pertama (Proksch et al., 2002). Penemuan penting lain adalah senyawa antiviral dari sumber vidarabine, yang berhasil diisolasi dari spons *Cryptotethya crypta* dan senyawa ini juga telah dapat disintesis.

Sejalan dengan perkembangan iptek khususnya yang terkait dengan keberhasilan dalam pengembangan teknik

pemisahan menggunakan kolom kromatografi, berbagai senyawa bahan alam laut dengan kerangka struktur baru telah banyak diteliti dan dipublikasikan dari berbagai biota laut. Beberapa diantaranya Cephalosporin C, merupakan senyawa metabolite sekunder yang berhasil diisolasi dari jamur *Acremonium chrysogenum* yang diperoleh dari sampel air laut Mediterania di dekat Sardinia pada tahun 1940-an. Penemuan ini menjadi titik awal pengembangan kelas antibiotik Cephalosporin (5) (König, 1992).



**Gambar 2.** Senyawa antibiotik

Kajian senyawa bahan alam laut terus berlanjut. Weinheimer dan Spraggins mempublikasikan kandungan prostaglandin yang tinggi dalam gorgonian *Plexaura homomalla* pada tahun 1969 (Weinheimer dan Spraggins, 1969). Melihat aplikasi paten pada produk alam laut menunjukkan peningkatan yang kuat sejak pertengahan 1980-an (Bongiorni dan Pietra, 1996). Hingga saat ini berbagai senyawa bioaktif baru telah diisolasi dari invertebrata laut. Lebih lanjut, generasi baru obat-obatan yang berasal dari spons laut telah memasuki pasar. Penjualan global produk produk alami laut cukup beragam, meliputi senyawa anti-kanker, antibiotik dan antivirus, dan diperkirakan bernilai jutaan dolar. Keuntungan tahunan obat berdasarkan senyawa turunan spons laut untuk mengobati herpes, misalnya, mencapai puluhan hingga ratusan juta dolar. Oleh karena itu, muncul minat di

kalangan ilmuwan dan perusahaan biotek berinvestasi dalam penelitian dan pengembangan obat-obatan baru dari laut, terutama dari invertebrata laut di ekosistem terumbu karang.

Ketertarikan ini sangat didukung oleh fakta bahwa genom manusia sebagian besar telah dapat diurutkan sekarang, sehingga membuka peluang baru untuk menemukan target obat yang juga memiliki potensial baru. Dengan analisis kandungan gen dalam genom manusia telah membuka wawasan penting tentang struktur fungsi protein yang dikodekan, serta sejumlah besar kemungkinan target obat dapat ditemukan. Informasi tersebut memiliki nilai yang sangat berharga melebihi jumlah senyawa berharga farmasi yang ada.

## **1.2 Biota Laut Sumber Senyawa Bioaktif**

Permukaan bumi 70% ditutupi oleh laut, namun potensi senyawa bahan alam laut sebagai sumber bahan obat relative kecil bila dibandingkan dengan daratan. Dengan kata lain, dapat diperkirakan bahwa baru sebagian kecil saja senyawa bahan alam laut yang tereksplorasi khususnya terkait sebagai sumber senyawa bioaktif. Sesungguhnya keanekaragaman biota laut juga mencerminkan keanekaragaman struktur senyawa bioaktif. Hal ini dikarenakan senyawa metabolite sekunder hanya dihasilkan oleh organisme tertentu saja. Hasil kajian literature hingga tahun 2018 telah dipublikasikan berbagai senyawa bioaktif baru yang diperoleh dari biota laut seperti spons, tunikata, mikroorganisme dll. Selain itu, hasil laporan akhir akhir ini senyawa bahan alam laut yang di laporkan terjadi peningkatan senyawa baru yang berhasil diisolasi dari bakteri laut, fungi, cyanobacteria secara berurutan mengalami peningkatan 22%, 85% dan 61%. Namun demikian, sumber utama senyawa senyawa baru

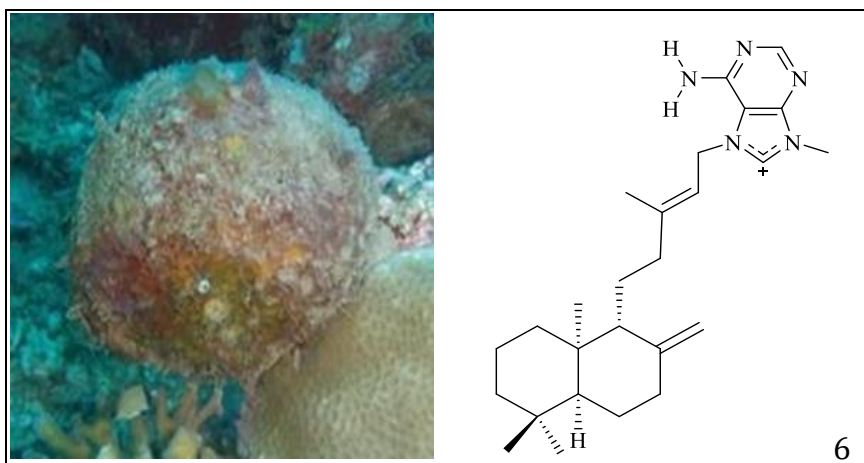
terutama bersumber dari invertebrata berbadan lunak yang hidup di daerah trumbu karang seperti spons, tunikata, dan moluska. Diantara kesemuanya itu, spons merupakan sumber yang kaya akan keragaman struktur dengan aktivitas farmakologi yang juga bervariasi.



**Gambar 3.** Ekosistem trumbu karang perairan Gorontalo

**Spons** pada umumnya dikarakteristikan dengan adanya spikula. Keberadaan spikula pada spons sangat penting untuk membentuk kerangka yang kuat. Komponen spikula pada umumnya merupakan silika oksida ( $\text{SiO}_2/\text{H}_2\text{O}$ ) seperti sering teramati pada spons *Hexactinellida* dan *Demospongiae*, atau kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) seperti pada spons *Calcarea*. Spons merupakan biota laut yang merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang memiliki keunikan struktur dengan bioaktivitas bervariasi. Spons laut (Porifera, Metozoa)

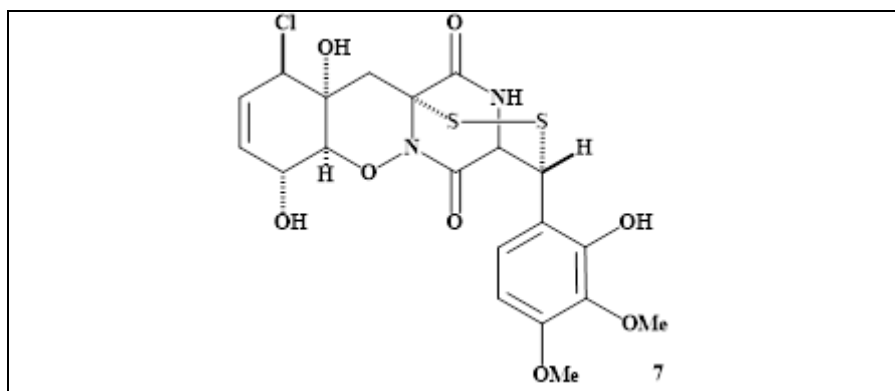
menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan bioaktivitas terhadap pengendapan larva invertebrata laut (Okino et al., 1995). Selain itu spons adalah yang paling primitif dari semua hewan multiseluler dan dibagi menjadi tiga kelas utama, *Hexactinellida*, *Demospongiae*, dan *Calcarea* (Müller dan Müller, 2003). Dalam pencarian senyawa bioaktif dari biota laut, kami telah berhasil mengisolasi senyawa agelasin B, C, dan D dari spons perairan Indonesia genus *Agelas*. Senyawa agelasin dengan kerangka alkaloid telah diketahui memiliki beberapa aktivitas biologis. Namun, dari hasil kajian secara intensif diperoleh informasi baru protein BCG3185c merupakan target agelasin D [6] (Arai et al. 2014).



**Gambar 4.** Struktur Molekul agelasin D [6]

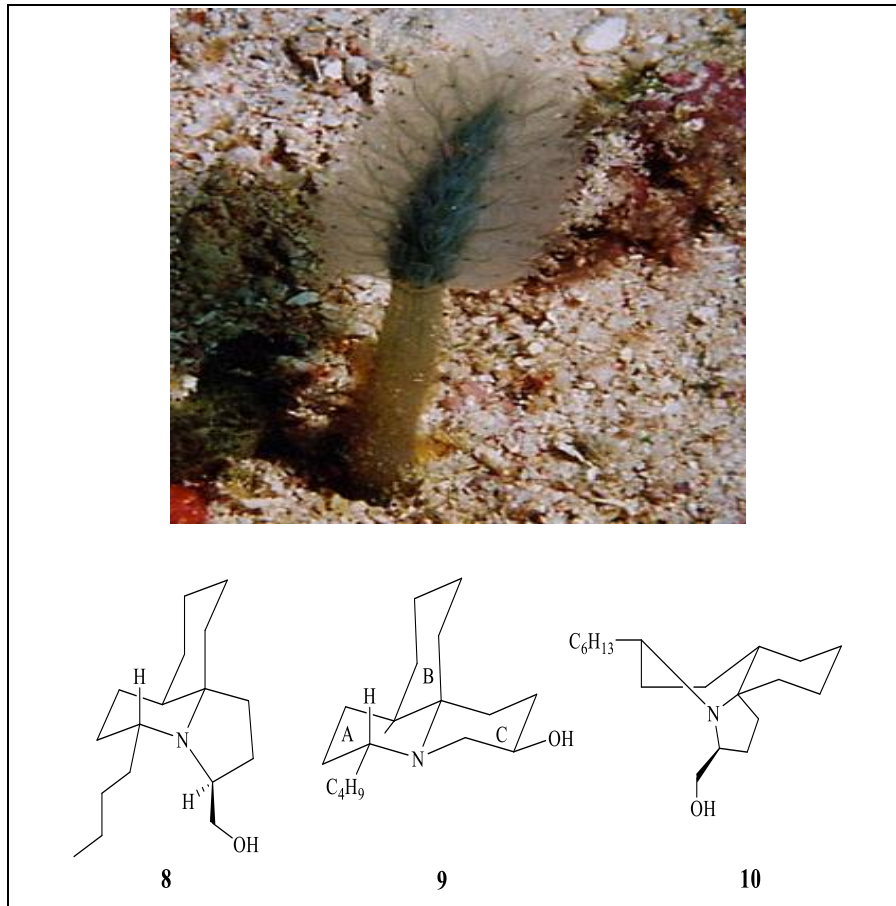
**Mikroorganisme** yang ada pada spons juga merupakan sumber potensial senyawa bioaktif dan telah menyumbang berbagai senyawa baru atau senyawa dengan aktivitas baru. Sebagai contoh, senyawa aktif epidithiodiketopiperazine DC1149B [7] merupakan inhibitor selektif terhadap pertumbuhan sel kanker pada kondisi minim nutrisi. Senyawa **7** berhasil diisolasi dari ekstrak kultur *Trichoderma lixii* yang diperoleh dari spons perairan Pagai, Mentawai. Senyawa **7** menunjukkan aktivitas sitotoksik selektif yang kuat terhadap karsinoma pankreas manusia, sel PANC-1 yang dikultur dalam

kondisi kekurangan glukosa dengan nilai  $IC_{50}$  0,02 M. Indeks selektif dari senyawa **7** mencapai 35.500 kali lipat lebih tinggi untuk sel yang dikultur dalam kondisi kekurangan glukosa dibandingkan dengan yang di bawah kondisi kultur umum. Analisis mekanistik menunjukkan bahwa senyawa **7** menghambat respon sinyal tegangan ER. Selain itu, efek senyawa **7** ini dapat dimediasi dengan menghambat kompleks II dalam rantai transpor elektron mitokondria (Tang et al., 2020).



**Gambar 5.** Struktur epidithiodiketopiperazine DC1149B [7]

**Ascidian** merupakan salah satu jenis biota laut yang juga berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Sebagai contoh, alkaloid trisiklik yang diwakili oleh cylindricines (Blackman et al., 1993; Li et al., 1994; Li et al., 1995), lepadiformine (Biard et al., 1994) dan fascicularin (Patil et al., 1997) adalah metabolit unik dari ascidian. Hasil survey di perairan flores, tepatnya di perairan Pulau Rinca telah berhasil diisolasi dua alkaloid trisiklik baru, polycitorols A [**8**] dan B [**9**] bersama dengan lepadiformine [**10**] yang diketahui dari ascidian laut dari keluarga *Polycitoridae*. Struktur senyawa baru dibuktikan dengan analisis data 2 D NMR dan perbandingan dengan **10** dan senyawa terkait lainnya. Kebaharuan senyawa **8** dan **9** terkait erat dengan silinder A dan B, kekurangan oksigenasi C-4 yang ditemukan dalam silinder dan memiliki rantai samping gugus butil bukan gugus heksil yang sebelumnya pernah dilaporkan.



**Gambar 6.** Struktur Molekul Polycitorol A[8], B[9], dan lepadiformine [10]

Program penemuan dan pengembangan obat baru-baru ini berdasarkan pemanfaatan berkelanjutan keanekaragaman hayati laut telah menarik banyak perhatian. karena banyak ilmuwan percaya bahwa integrasinya dengan kemajuan terbaru dalam Bioteknologi tidak hanya menjanjikan manfaat ekonomi tetapi juga mempromosikan perlindungan dan konservasi keanekaragaman hayati laut. Beberapa inovasi



bioteknologi telah memungkinkan untuk menghasilkan pendekatan yang ramah lingkungan dan ekologis, yang berkontribusi besar terhadap pemanfaatan keanekaragaman hayati laut secara berkelanjutan. Multidisiplin yang sedang berkembang ini sangat menarik untuk dikembangkan di Indonesia sebagai negara tropis dengan sumber daya kelautan yang sangat beragam. Oleh karena itu di sini kita akan membahas pengembangan konsep tentang bagaimana penemuan obat berbasis produk alam laut dapat diimplementasikan untuk mempromosikan pemanfaatan yang berkelanjutan, perlindungan dan konservasi keaneka-ragaman hayati laut serta untuk mengamankan manfaat ekonomi bagi Indonesia.

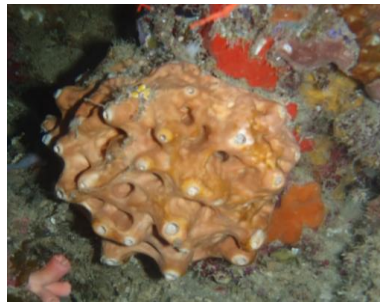
### **1.3 Kajian Biota Laut Spons Perairan Indonesia**

Indonesia sebagai negara kepulauan terbesar di dunia dengan 17.508 pulau dan 81.000 km garis pantai diakui dunia sebagai yang terkaya di dunia dalam hal keanekaragaman organisme laut. Terumbu karang Indonesia khususnya memiliki keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Keanekaragaman hayati yang luar biasa ini menawarkan peluang dan tantangan besar untuk penemuan gen baru, enzim, metabolit sekunder yang mungkin sangat berguna baik dari perspektif ilmiah maupun biomedis. Namun ada kekhawatiran yang meningkat bahwa kondisi terumbu karang di Indonesia saat ini berada di bawah ancaman serius, terutama karena aktivitas manusia yang berlebihan sehingga menyebabkan kerusakan ekosistem trumbu karang. Degradasi terumbu karang secara signifikan menurunkan manfaat ekonomi dari eksplorasi hasil alam laut, dan dapat menyebabkan kesulitan ekonomi jangka panjang bagi banyak masyarakat pesisir yang

sebagian besar bergantung pada perikanan karang untuk kelangsungan hidup.

Ditinjau dari aspek biologi, spons sepenuhnya hewan akuatik dan kebanyakan dari mereka hidup di perairan dangkal, namun beberapa diantaranya hidup diperairan laut dalam. Spons merupakan hewan sessile dan menjalani kehidupan melekat pada substratum. Setelah pembuahan, larva yang dilepaskan tersebar untuk menemukan tempat baru untuk pemukiman. Selain itu, spons adalah *filter feeder* yakni menyaring air melalui banyak pori-pori kecil, yaitu ostia membentuk saluran air yang luas. Sistem pori dan saluran pada spons ini memungkinkan mereka menyaring air. Spons tidak memiliki jaringan sejati tetapi dilengkapi dengan berbagai jenis sel, mulai dari *asconoid* sederhana hingga *leuconoid* yang lebih rumit. Arkeosit totipoten, yang dapat berubah menjadi sel reproduktif, kerangka atau epidermis, telah menarik minat penelitian karena kesamaannya dengan sel punca.

Ditinjau dari aspek kimia bahan alam, sponge merupakan biota laut yang merupakan sumber senyawa bioaktif yang memiliki keunikan struktur dengan bioaktivitas bervariasi. Kajian mengenai senyawa bioaktif spons perairan Indonesia dalam buku ini merupakan hasil kajian sejak tahun 1996 hingga tahun 2020. Pengambilan spons dilakukan dengan menggunakan teknik SCUBA diperairan Indonesia wilayah Timur dan Barat. Kajian senyawa bioaktif sponge difokuskan pada senyawa baru dari biota laut yang ada diperairan Indonesia. Pengambilan sampel biota laut dilakukan di beberapa wilayah Indonesia Timur (Biak, Bitung, Kendari, Makasar, NTT) dan Indonesia Barat (Aceh, Padang, Lampung, dan Ujung Kulon). Pada Gambar 7 dan 8 terlihat beberapa jenis biota laut yang terdokumentasi dari perairan Gorontalo (2019) dan perairan Banyuwedang, Buleleng Bali (2018).



02C35



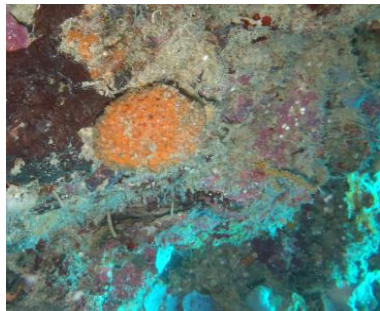
02C36



02C37



03D41



03D46



04E52

**Gambar 7.** Keanekaragaman biota laut perairan Gorontalo



18B18



18D33



18B35



18D36



18E41



18F47

**Gambar 8.** Keanekaragaman biota laut perairan Buleleng Bali

Secara rinci kajian beberapa senyawa bioaktif dari spons perairan Indonesia akan di bahas pada Bab selanjutnya. Informasi ini sangat penting dalam pengembangan obat baru yang berasal dari laut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arai, M., Yamano, Y., Setiawan, A., & Kobayashi, M. (2014). Identification of the Target Protein of Agelasine D, a Marine Sponge Diterpene Alkaloid, as an Anti-dormant Mycobacterial Substance. *ChemBioChem*, 15(1), 117-123.
- Bergmann, W., & Feeney, R. J. (1950). The isolation of a new thymine pentoside from sponges<sup>1</sup>. *Journal of the American Chemical Society*, 72(6), 2809-2810.
- Bergmann, W., & Feeney, R. J. (1951). Contributions to the study of marine products. XXXII. The nucleosides of sponges. I. *The Journal of Organic Chemistry*, 16(6), 981-987.
- Biard, J. F., Guyot, S., Roussakis, C., Verbist, J. F., Vercauteren, J., Weber, J. F., & Boukef, K. (1994). Lepadiformine, a new marine cytotoxic alkaloid from *Clavelina lepadiformis* Müller. *Tetrahedron letters*, 35(17), 2691-2694.
- Blackman, A. J., Li, C., Hockless, D. C. R., Skelton, B. W., White, A. H. (1993) Cyclindricines A-B, novel alkaloids from the ascidian *Clavelina cylindrica*. *Tetrahedron*, 49, 8645-8656.
- Biard, J. F., Guyot, S., Roussakis, C., Verbist, J. F., Vercauteren, J., Weber, J. F., & Boukef, K. (1994). Lepadiformine, a new marine cytotoxic alkaloid from *Clavelina lepadiformis* Müller. *Tetrahedron letters*, 35(17), 2691-2694.
- Issa, H. H., Tanaka, J., Rachmat, R., Setiawan, A., Trianto, A., Higa, T. (2005) Polycitorols A and B, New Tricyclic Alkaloids from an Ascidian. *Marine drugs*, 3, 78-83.

- König, G. M. (1992) Meeresorganismen als Quelle pharmazeutisch bedeutsamer Naturstoffe. Deutsche Apotheker Zeitung, 132, 673-683
- Li, C., Blackman, A. (1995). Cyclindricines H-K, novel alkaloids from the ascidian *Clavelina cylindrica*. Australian Journal of Chemistry, 48, 955-965.
- Li, C.; Blackman, A. J. (1995) Cyclindricines C-G, perhydropyrrolo[2,1-j]quinolin-7-one alkaloids from the ascidian *Clavelina cylindrica*. Australian Journal of Chemistry, 1994, 47, 1355-1361.
- Müller, W. E., & Müller, I. M. (2003). Analysis of the sponge [Porifera] gene repertoire: implications for the evolution of the metazoan body plan. Progress in molecular and subcellular biology, 37, 1-33.
- Okino, T., Yoshimura, E., Hirota, H., & Fusetani, N. (1995). Antifouling kalihinenes from the marine sponge *Acanthella cavernosa*. Tetrahedron letters, 36(47), 8637-8640.
- Patil, A. D., Freyer, A. J., Reichwein, R., Carte, B., Killmer, L. B., Faucette, L., ... & Faulkner, D. J. (1997). Fascicularin, a novel tricyclic alkaloid from the ascidian *Nephteis fascicularis* with selective activity against a DNA repair-deficient organism. Tetrahedron letters, 38(3), 363-364.
- Proksch, P., Edrada, R., & Ebel, R. (2002). Drugs from the seas—current status and microbiological implications. Applied microbiology and biotechnology, 59(2), 125-134.
- Tang, R., Kimishima, A., Ishida, R., Setiawan, A., & Arai, M. (2020). Selective cytotoxicity of epidithiodiketopiperazine DC1149B, produced by marine-derived *Trichoderma lixii* on the cancer cells adapted to

glucose starvation. *Journal of natural medicines*, 74(1), 153-158.

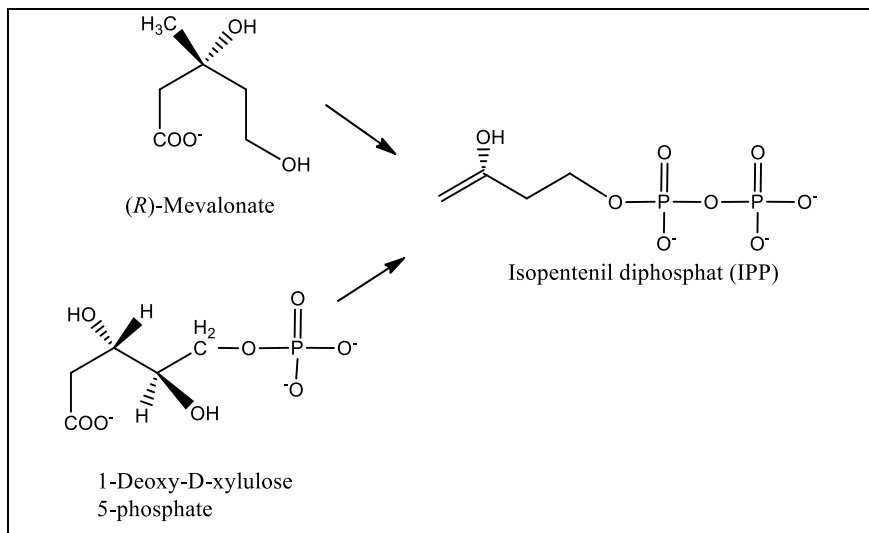
Weinheimer, A. J., Spraggins, R. L. (1969) The occurrence of two new prostaglandin derivatives (15-epi-PGA<sub>2</sub> and its acetate, methyl ester) in the gorgonian *Plexaura homomalla* chemistry of coelenterates. XV. *Tetrahedron letters*, 59 (59):5185-5188.

## BAB 2. TERPENOID DAN STEROID

Senyawa terpenoid dan steroid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder dari spons. Senyawa terpenoid termasuk dalam kelompok lipid yang banyak ditemukan di sponge dengan berbagai variasi struktur. Terlepas dari perbedaan struktural yang tampak, semua terpenoid saling terkait. Kerangka struktur terpenoid mengandung kelipatan lima karbon unit dan diturunkan secara biosintetik dari prekursor lima karbon isopentenil difosfat. Pemahaman secara formal, terpenoid mengandung oksigen, sedangkan terpene merupakan hidrokarbon. Namun untuk penyederhanaan kita akan menggunakan istilah terpenoid untuk mengacu ke dua senyawa tersebut.

Terpenoida diklasifikasikan menurut jumlah kelipatan lima karbon penyusunnya. *Monoterpenoid* mengandung 10 karbon dan merupakan gabungan dua isopentenil difosfat, *seskiterpenoid* mengandung 15 karbon berasal dari tiga isopentenil difosfat. Diterpenoid mengandung 20 karbon dan disusun dari empat isopentenil difosfat, dan seterusnya hingga triterpenoid (C30) dan tetra terpenoid (C40). Isopentenil difosfat (IPP) merupakan prekursor terpenoid yang dapat diperoleh dari dua proses biogenesis berbeda. Hal tersebut tergantung pada organismenya dan produk akhir. Pada hewan dan tanaman tinggi senyawa sesquiterpen dan terpenoid dihasilkan terutama melalui jalur mevalonate, sedangkan monoterpen, diterpen, dan tetraterpenoid disintesis melalui jalur 1-deoxyxylose-5-phosphate (DXP). Pada bakteri kedua jalur itu digunakan.





**Gambar 9.** Jalur pembentukan precursor terpenoid

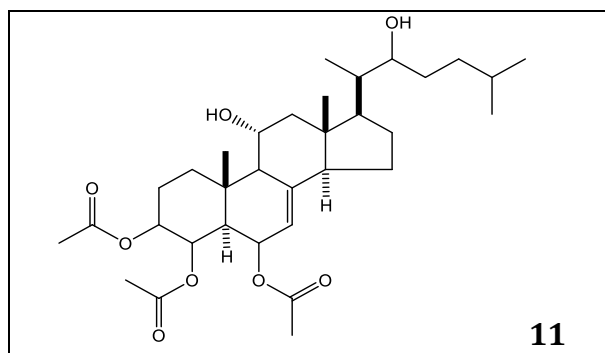
## 2.1 Agosterol

**Sumber** Agosterol A [11] pertamakali diisolasi dari spons laut *Spongia* sp. Pada awalnya, sampel spons diperoleh dari perairan Teluk Ago di Jepang. Untuk memenuhi kebutuhan analisis struktur, pencarian sampel *Spongia* sp. dilakukan diperairan Indonesia. *Spongia* sp. dapat diperoleh di perairan Lombok khususnya di daerah Gili Meno dan sekitarnya dengan sebaran yang terbatas. Secara struktur Agosterol memiliki cincin A, B, C, D sebagai karakteristik senyawa steroid dengan adanya penambahan gugus hidroksi pada cincin C dan atom C<sub>22</sub> (Aoki et al., 1998). Senyawa **11** adalah sterol asetat polihidroksilasi baru. Pengisolasian senyawa sterol lebih lanjut mengarahkan kami untuk mengisolasi sterol analog, meliputi agosterol B, C, A 4, D 2, A 5 dan C 6 dari spons yang sama dan

serta menentukan struktur berdasarkan data fisik dan kimia (Aoki et al., 1999)

Secara sederhana, senyawa **11** diisolasi melalui proses ekstraksi dan pemurnian melalui beberapa tahapan kromatografi menggunakan fasa diam SiO<sub>2</sub> dan campuran fase gerak heksan : etilasetat secara *gradient*. Fraksi yang diperoleh selanjutnya di murnikan menggunakan fase diam C<sub>18</sub> dengan fase gerak MeOH:H<sub>2</sub>O (landaian). Senyawa **11** diperoleh sebagai padatan amorf tak berwarna dan memutar bidang polarisasi dengan nilai  $\alpha_D + 27,3$  (c= 0.1, dalam MeOH). Spektrum IR **11** menunjukkan pita serapan yang kuat karena adanya gugus ester (1746 cm<sup>-1</sup>) dan hidroksil (3461 cm<sup>-1</sup>). Interpretasi data FAB MS senyawa **11** menunjukkan puncak ion kuasimolekul (M+Na)<sup>+</sup> pada m/z 599 dan rumus molekul ditentukan sebagai C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>8</sub> menggunakan HR-FAB MS.

**Struktur:** Struktur planar senyawa **11** ditentukan berdasarkan interpretasi data 1D dan 2 D NMR. Untuk melengkapi data, senyawa **11** diasetilasi menggunakan Ac<sub>2</sub>O/piridin, pada temperature ruang menghasilkan senyawa pentaasetat yang mengindikasikan adanya dua gugus hidroksi pada struktur **11**. Sedangkan konfigurasi gugus hidroksi pada **11** ditentukan berdasarkan metoda Mosher.



**Gambar 10.** Struktur absolut Agosterol A (**11**)

**Bioaktivitas**, Senyawa **11** memperlihatkan aktivitas sebagai reversal agent yang sepenuhnya membalikkan resistensi multidrug dalam sel karsinoma manusia yang disebabkan oleh ekspresi berlebih dari dua jenis membran transporter, Pgp dan MRP. Hasil kajian terakhir, Ekspresi berlebih dari transporter kaset pengikat ATP (ABC) sering dikaitkan dengan resistensi multidrug (MDR) dalam kemoterapi kanker. P-glikoprotein (P-gp) adalah salah satu pengangkut obat yang paling baik dipelajari terkait dengan MDR. Saat ini tidak ada obat yang disetujui tersedia untuk penggunaan klinis dalam kemoterapi kanker untuk membalikkan MDR dengan menghambat P-glikoprotein. Menggunakan studi komputasi, kami sebelumnya mengidentifikasi beberapa senyawa yang menghambat P-gp dengan menargetkan domain pengikatan nukleotida dan menghindari domain pengikatan obatnya.

Senyawa **11** sepenuhnya membalikkan resistensi KB-C2 terhadap colchicine pada sel pada konsentrasi 3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan juga resistensi sel KB-CV60 terhadap vincristine yang mengekspresi MRP (multidrug resistance-associated protein secara berlebihan, pada 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Sejauh ini, ada beberapa agen yang dilaporkan mampu membalikkan MDR yang disebabkan oleh ekspresi MRP yang berlebihan. Senyawa **11** dapat menjadi kandidat farmasi untuk membalikkan MDR dan juga dapat berguna untuk penjelasan rinci dari mekanisme molekuler MRP

Informasi mengenai mekanisme kerja senyawa **11** diperoleh dari studi hubungan antara struktur dan aktivitas, masing-masing dari kelompok 3,4,6-asetoksil dan kelompok 11,22-hidroksil dijelaskan menjadi penting untuk membalikkan MDR dalam sel tumor. Senyawa **11** membalikkan sifat resistensi sel KB-C2 terhadap colchicine dan juga resistensi sel KB-CV60 terhadap vincristine pada konsentrasi 3 hingga 10

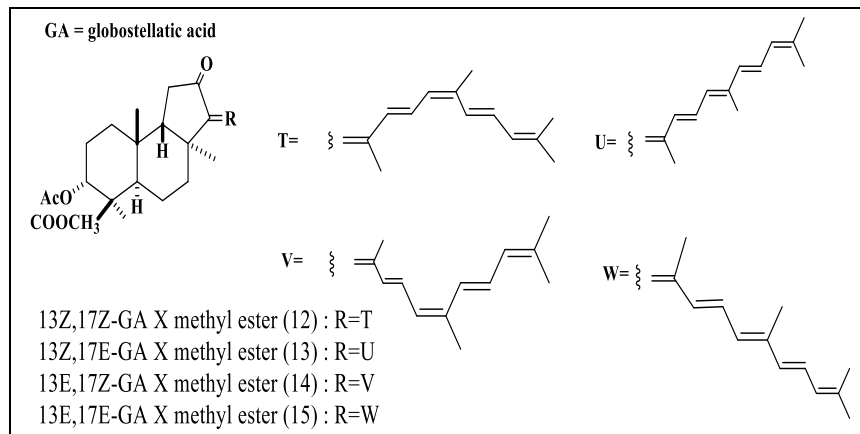
$\mu\text{M}$ . Senyawa **11** pada konsentrasi 3  $\mu\text{M}$  mampu meningkatkan konsentrasi vincristine dalam sel KB-C2 dan sel KB-CV60 ke tingkat dalam sel induk KB-3-1. Senyawa **11** juga menurunkan penghabisan vincristine dari kedua sel KB-C2 dan sel KB-CV60 ke tingkat yang terlihat pada sel KB-3-1. Senyawa **11** menghambat [ $^3\text{H}$ ]azidopine-photolabeling dari P-gp dan juga menghambat penyerapan [ $^3\text{H}$ ]S-(2,4-dinitrofenil) glutathione (DNP-SG) di dalam vesikel membran yang dibuat dari KB-CV60 sel. Melalui percobaan tersebut disimpulkan bahwa senyawa **11** secara langsung menghambat keluarnya obat dari dalam sel melalui P-gp dan/atau MRP1 (Aoki et al., 2001).

### 2.3 Isomarabarian

**Sumber,** Senyawa isomarabarian diperoleh dari spons *Rhabdastrella globostellata*. Spons jenis ini banyak ditemukan di perairan Indonesia seperti Bali, Momere, Kupang dengan jumlah sebaran terbatas. Empat novel asam globostellatic X metil ester (**12**– **15**) memiliki kerangka triterpenoidal tipe isomarabarian dan tiga senyawa baru terkait juga diisolasi dari spons laut, sebagai senyawa anti-proliferasi selektif terhadap sel endotel vein tali pusat manusia (HUVEC). Struktur kimia tersebut ditentukan melalui analisis data 1D dan 2D NMR.

**Struktur:** Tahap awal dalam penentuan struktur ini, fraksi aktif diubah menjadi ester metilnya dengan menggunakan TMS-diazomethane dan dipisahkan oleh HPLC fase terbalik untuk mendapatkan empat senyawa bernama 13Z,17Z-globostellatic acid X methyl ester [**12**], 13Z,117E-globostellatic acid X metil ester [**13**], 13E,17Z-asam globostellatic X metil ester [**14**], dan asam 13E,17E-

globostellatic X methyl ester [15]. Struktur ke empat senyawa tersebut terlihat pada Gambar 11. Perbedaan struktur terlihat pada rantai samping berikut konfigurasi strukturnya



**Gambar 11.** Struktur molekul globostellatic acid X methyl ester

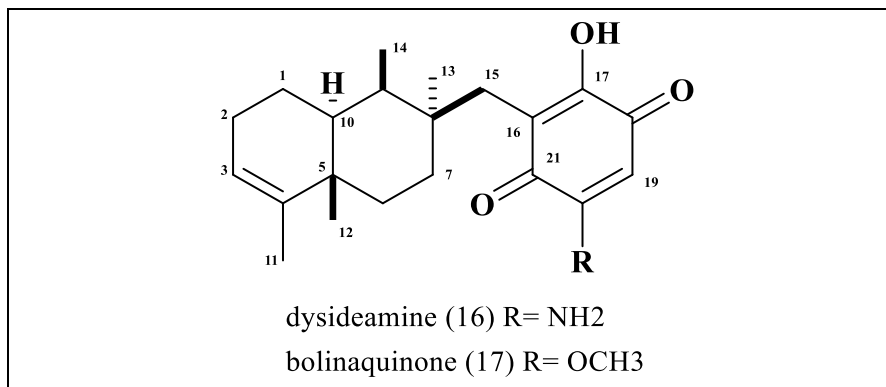
**Bioaktivitas**, penyakit kanker masih merupakan permasalahan di bidang pengobatan. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Pencarian senyawa anti-prolifratif dari senyawa bahan alam masih merupakan target prioritas bagi para peneliti permasalahan yang ada. Kajian ini di dasari pada proses proliferasi sel mamalia.

Dua ester metil asam globostellatic X yang memiliki 13E-geometri ditemukan menghambat proliferasi HUVECs, 80-250 kali lipat secara selektif dibandingkan dengan beberapa garis sel lainnya. 13E,17E-Globostellatic acid X methyl ester (**14**) juga menghambat pembentukan tubular yang diinduksi bFGF dan migrasi HUVEC yang diinduksi VEGF. Selain itu, apoptosis huvecs yang diinduksi, sedangkan itu menunjukkan tidak berpengaruh pada fosforilasi yang diinduksi VEGF dari ERK1/2 di HUVECs.

### 2.3 Dysideamine

**Sumber:** Dalam perjalanan pencarian kami untuk zat neuroprotektif, kami mengisolasi dysideamine [**16**], aminoquinone sesquiterpene baru, bersama dengan bolinaquinone [**17**] dari spons dysidea sp. Kode sampel 05C33 perairan Biak. Senyawa **16** dan **17** termasuk dalam sesquiterpene yang memiliki kerangka drimane yang unik. (Suna et al., 2009). Sejauh ini, banyak sesquiterpene quinones memiliki C-9 kerangka quinone misalnya, ilimaquinone (Luibrand et al., 1979) an isospongiaquinone (Kazlauskas et al., 1978) yang telah dilaporkan. Hal yang menarik, senyawa **16** dan **17** adalah kerangka struktur sesquiterpene quinone langka yang memiliki kerangka quinone pada C8. Menggunakan Teknik panduan bioassay, komponen dalam ekstrak MeOH dipisahkan melalui tahapan, partisi pelarut, kromatografi kolom SiO<sub>2</sub>, dan HPLC sehingga diperoleh senyawa aktif bernama senyawa **16**. Komponen senyawa yang diketahui terkait, senyawa **17**, juga diisolasi dari ekstrak MeOH aq 90% dengan prosedur serupa.

**Struktur:** Pada penentuan struktur senyawa **16 dan 17**, diawali dengan mendapatkan informasi stereo struktur relatif **16** melalui analisis korelasi NOESY antara H-6, H-10 dan H-13; H-7, H-12, H-15 dan H-14; H-9 dan H-10. Selanjutnya, senyawa **17** diidentifikasi berdasarkan hasil analisis analisis ESI-TOF-MS dan 2D NMR serta membandingkannya dengan data spektral otentik. Melalui tahapan dapat dibuktikan kebaruan struktur **16**.



**Gambar 12.** Struktur molekul dysideamine [16] dan bolinaquinone [17]

**Bioaktivitas** Stroke iskemik adalah penyebab utama kecacatan dan kematian pada orang dewasa. Sekitar enam juta orang meninggal karena stroke pada tahun 2005. Stroke iskemik terjadi ketika suplai darah normal ke otak terganggu karena penyumbatan arteri oleh bekuan darah. Hal tersebut menyebabkan kematian sel neuronal disebabkan oleh kekurangan oksigen dan nutrisi. Di sisi lain, IAA adalah inhibitor gliseraldehida 3 fosfat dehidrogenase (GAPDH), yang merupakan salah satu enzim pada jalur glikolisis. Dilaporkan bahwa sel neuron yang diobati IAA menyebabkan kematian sel setelah penipisan ATP intraseluler, disfungsi mitokondria, dan produksi oksigen reaktif spesies ROS (Winkler et al., 2003; Sperling et al., 2003)

Pengamatan ini mirip dengan stroke iskemik in vivo. Kemudian, kematian sel yang diinduksi IAA digunakan sebagai model stroke iskemik. Selain itu, studi terbaru menunjukkan bahwa ROS mungkin menjadi pemicu utama kematian sel terkemuka pada stroke iskemik dan penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Alzheimer dan Parkinson dengan mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan seluler termasuk jalur protein kinase (MAPK) yang diaktifkan mitogen. (Chen et al., 1995; Guyton et al., 1996; Bath et al. 1999). Oleh karena itu,

senyawa yang menunjukkan efek neuroprotektif terhadap ROS diharapkan menjadi obat baru untuk penyakit ini. Bahkan, edaravone, yang mencegah cedera oksidatif, telah disetujui untuk pengobatan infark serebral akut. Di sisi lain, faktor neurotrofik seperti faktor pertumbuhan saraf (NGF) memainkan peran penting dalam pertumbuhan, diferensiasi, dan kelangsungan hidup dalam sel neuron. (Barde 1989).

Sehingga, mereka diharapkan memiliki aktivitas regeneratif di jaringan yang terluka dalam iskemik stroke atau penyakit neurodegeneratif. Namun, karena ketidakmampuan mereka untuk melewati penghalang darah-otak dan kerentanan terhadap enzim hidrolitik, mereka tidak dapat digunakan untuk perawatan medis. (Abe, 2000; Siegel, 2000). Kemudian, zat yang menginduksi diferensiasi terhadap sel-sel neuron juga disaring dalam pengembangan obat untuk stroke iskemik dan penyakit neurodegenerative (Gillespie, 2003; O'Neill et al., 2003). Beberapa senyawa seperti KT7515 dan T-817MA, sedang dalam studi klinis. Berdasarkan temuan ini, senyawa, yang memiliki kedua aktivitas perlindungan dari stres oksidatif dan aktivitas menginduksi diferensiasi neuron, akan menjadi petunjuk baru untuk kandidat obat.

Senyawa **16** dan **17** memiliki aktivitas neuroprotektif terhadap kematian sel yang diinduksi IAA pada sel neuron hippocampal HT22 tikus. Dari analisis untuk mekanisme reaksi, terbukti senyawa **16** ditemukan mampu menghambat produksi ROS dengan pengobatan IAA dan juga mampu menginduksi pertumbuhan neurit terhadap sel neuroblastoma tikus Neuro 2A



## DAFTAR PUSTAKA

- Abe, K. (2000). Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cells against ischemic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20(10), 1393-1408.
- Aoki, S, **Setiawan, A.**, Yoshioka, Y., Higuchi K, Fudetani. R., Chen ZS., Sumizawa, T., Akiyama S., Kobayashi, M. Reversal of multidrug resistance in human carcinoma cell line by agosterols, marine spongean sterols, *Tetrahedron*, 55 (49):13965-13972.
- Aoki, S., Chen, ZS., Higasiyama, K., **Setiawan, A.**, Akiyama, S., & Kobayashi, M. (2001). Reversing effect of agosterol A, a spongean sterol acetate, on multidrug resistance in human carcinoma cells. *Japanese journal of cancer research : Gann*, 92(8), 886-895.
- Aoki, S., Yoshioka, Y., Miyamoto Y., Higuchi, K., **Setiawan, A.**, Murakami, N., Chen, ZS., Sumizawa T, Akiyama, S., Kobayashi, M. (1998). Agosterol A, a novel polyhydroxylated sterol acetate reversing multidrug resistance from a marine sponge of *Spongia* sp., *Tetrahedron letters*, 39(35):6303-6306.
- Barde, Y. A. (1989). Trophic factors and neuronal survival. *Neuron*, 2(6): 1525-1534.
- Bhat, N. R., and Zhang, P. (1999). Hydrogen Peroxide Activation of Multiple Mitogen-Activated Protein Kinases in an Oligodendrocyte Cell Line. *Journal of Neurochemistry*, 72(1): 112-119.

- Chen, Q., Olashaw, N., Wu J. (1995). Participation of reactive oxygen species in the lysophosphatidic acid-stimulated mitogen-activated protein kinase activation pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 270: 28499-502.
- Gillespie, L. N. (2003). Regulation of axonal growth and guidance by the neurotrophin family of neurotrophic factors. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 30(10), 724-733.
- Guyton, K. Z., Liu, Y., Gorospe, M., Xu, Q., & Holbrook, N. J. (1996). Activation of mitogen-activated protein kinase by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Role in cell survival following oxidant injury. *Journal of Biological Chemistry*, 271(8), 4138-4142.
- Kazlauskas, R., Murphy, P.T., Warren, R.G., Wells, R.J., Blount, J.F. (1978) New quinones from a dictyoceratid sponge. *Australian Journal of Chemistry* 1978; 31:2685-2697.
- Luibrand, R.T., Erdman, T.R., Vollmer, J. J., Scheuer, P.J., Finer, J., Clardy, J. (1979). Ilimaquinone, a sesquiterpenoid quinone from a marine sponge. *Tetrahedron*, 35 (5): 609-612
- Maher, P., Salgado, K.F., Zivin, J.A., and Lapchak, P. A. A. (2007). Novel approach to screening for new neuroprotective compounds for the treatment of stroke. *Brain Research*, 1173:117-125.
- O'Neill, K., Chen, S., & Brinton, R. D. (2004). Impact of the selective estrogen receptor modulator, raloxifene, on neuronal survival and outgrowth following toxic insults associated with aging and Alzheimer's disease. *Experimental neurology*, 185(1), 63-80.

- Siegel, G. J., & Chauhan, N. B. (2000). Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain research. Brain research reviews*, 33(2-3), 199–227.
- Sigalov, E., Fridkin, M., Brenneman, D. E., & Gozes, I. (2000). VIP-Related protection against iodoacetate toxicity in pheochromocytoma (PC12) cells: a model for ischemic/hypoxic injury. *Journal of molecular neuroscience*, 15(3), 147–154.
- Sperling, O., Bromberg, Y., Oelsner, H., & Zoref-Shani, E. (2003). Reactive oxygen species play an important role in iodoacetate-induced neurotoxicity in primary rat neuronal cultures and in differentiated PC12 cells. *Neuroscience letters*, 351 (3):137-140.
- Suna H, Arai M, Tsubotani Y, Hayashi A, **Setiawan A**, Kobayashi M. (2009) Dysideamine, a new sesquiterpene aminoquinone, protects hippocampal neuronal cells against iodoacetic acid-induced cell death. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(11):3968-72.
- Winkler, B. S., Sauer, M. W., & Starnes, C. A. (2003). Modulation of the Pasteur effect in retinal cells: implications for understanding compensatory metabolic mechanisms. *Experimental eye research*, 76(6), 715-723.

## BAB 3. ALKALOID

Alkaloid adalah sejenis senyawa organik yang mengandung nitrogen yang ada di alam, yang memiliki sifat seperti alkali. Mereka adalah metabolit sekunder dengan aktivitas biologis yang signifikan, yang sebagian besar memiliki struktur cincin yang kompleks dan nitrogen sebagian besar terkandung dalam cincin. Alkaloid merupakan satu kelas yang paling penting dari senyawa bahan alam yang menyediakan obat sejak zaman kuno. Selama dekade terakhir, alkaloid yang diturunkan dari laut terbukti sangat penting untuk penemuan obat seperti yang dicontohkan oleh obat antitumor baru Yondelis® (ET-743). Alkaloid laut mewakili sekitar seperempat dari lebih dari 25.000 produk alami laut yang dilaporkan hingga saat ini, dan sedikit lebih dari setengahnya diperoleh dari spons.

Dalam pembahasan ini, beberapa jenis senyawa alkaloid baru yang ditemukan di Indonesia akan dibahas. Secara spesifik akan dibahas 3 jenis alkaloid dengan struktur yang berbeda berikut sifat bioaktifnya.

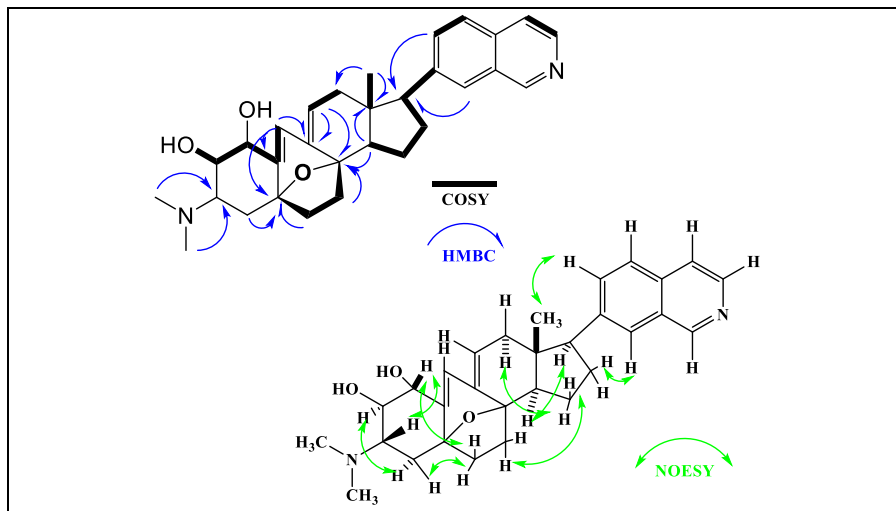
### 3.1 Cortistatine

**Sumber:** Pada kegiatan survey pengambilan sampel biota laut perairan Flores 2001, berhasil dikoleksi spons *Corticium simplex* bersamaan dengan berbagai jenis biota lain. Spongs *Corticium simplex* termasuk sulit diperoleh namun juga dapat ditemui di perairan Biak pada saat survey di tahun 2005. Atas dasar pemisahan yang dipandu data bioassay, berhasil diisolasi empat alkaloid steroid baru bernama cortistatins A, B, C, dan D, yang unik abeo-9(10-19)-alkaloid steroid tipe androstane memiliki oxabicyclo[3.2.1]okten dan unit isokuinolin, dari Indonesia (Aoki et al., 2006).

Cortistatin A menunjukkan aktivitas anti-proliferatif yang sangat selektif terhadap HUVEC dan juga menghambat

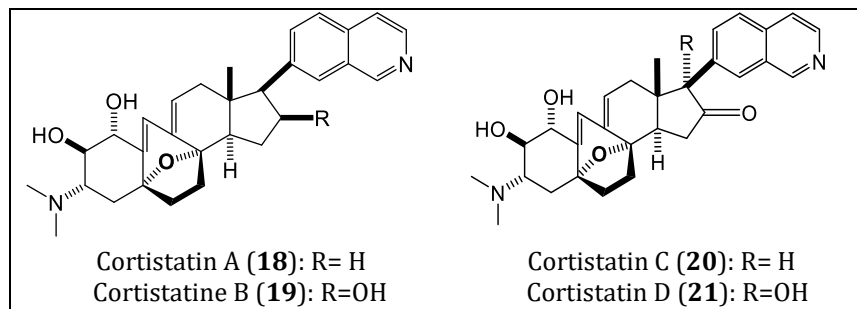
migrasi dan pembentukan tubular HUVEC yang diinduksi oleh VEGF atau bFGF pada konsentrasi 2-200 nM. Sedangkan, cortistatin B, C, dan D, yang merupakan analog teroksidasi pada posisi C-16 dan/atau C-17 dari cortistatin A, menunjukkan aktivitas yang lebih lemah dibandingkan dengan posisi 5.

**Struktur:** struktur relatif atau planar Cortistatin ditentukan berdasarkan hasil analisis korelasi NOESY dan nilai konstanta kopling  $3 J_{HH}$  (Gambar 13). Adanya korelasi antara H-1 dan H-3 dan nilai konstanta kopling yang relative besar (dd,  $J = 9,6, 9,6$  Hz) dari H-2 mengungkapkkan orientasi aksial untuk proton H-1, -2, dan -3. Korelasi antara H-1 dan H-6a ( $\delta$  2.19) juga mengungkapkkan geometri dari jembatan oksigen di cincin B lingkaran tujuh. Korelasi antara H-14 dan Hax-12, H-17; H-7a ( $\delta$  1.78) dan 18-CH<sub>3</sub> mengungkapkkan orientasi trans-aksial untuk H-14 dan 18-CH<sub>3</sub>. Orientasi unit isoquinoline pada posisi C-17 disimpulkan dari korelasi antara 18-CH<sub>3</sub> dan H-6', H-8' pada unit isoquinoline. Kristal 1 diperoleh menggunakan pelarut aseton selanjutnya dianalisis menggunakan teknik kristalografi sinar-X untuk mengkonfirmasi stereostruktur relatifnya.



**Gambar 13.** Analisis struktur relatif cortistatin A

Untuk menentukan struktur absolut Cortistatin A [18], kami menerapkan metode sirkular dichroism (CD) exciton chirality. Senyawa 18 menunjukkan split CD maxima ( $\Delta\epsilon$  -17 pada 237 nm dan  $\Delta\epsilon$  +35.0 pada 217 nm), yang berasal dari kopling eksiton antara 9(11),10(19)-diena dan kromofor isoquinolin. Sebagai hasilnya, konfigurasi absolut pada pada C-17 pada senyawa A ditetapkan sebagai *S* dan struktur absolut Cortistatin A terlihat pada Gambar 14.



**Gambar 14.** Struktur absolute molekul Cortistatin A [18], B [19], C [20] dan D [21]

Kajian lebih lanjut, empat novel alkaloid steroid bernama cortistatins E, F, G, dan H telah diisolasi dari spons laut Kortikium simpleks (Watanabe et al., 2007). Struktur kimia dari keempat kortistatin ini, yang unik abeo-9(10-19)-alkaloid steroid tipe stigmastane memiliki oxabicyclo[3.2.1]octene dan N-methyl piperidine atau 3-methylpyridine unit dalam rantai samping. Keempat senyawa ini hanya menunjukkan aktivitas anti-proliferatif yang lemah terhadap sel endotel vein umbilical manusia (HUVECs) pada konsentrasi 0,35-1,9 mM berbeda dengan cortistatin A [18], yang diisolasi sebagai penghambat proliferasi HUVEC yang sangat selektif dari spons laut yang sama.

Cortistatin E, F, G, dan H diklarifikasi memiliki keunikan struktur pada abeo-9(10-19) untuk jenis senyawa steroid alkaloid stigmastane yang memiliki isoquinoline, N-metil

piperidine, atau unit 3-metilridin pada rantai sampingnya. Sebelumnya, beberapa alkaloid steroid jenis abeo-9(10-19) telah diisolasi dari tanaman terestrial *Buxus* sp. dan *Cimicifuga* sp. (Shamma et al., 1973) dan spons laut *Corticium* sp. (De Mario et al Stigmastane-jenis steroid alkaloid memiliki unit N-metil piperidine bersama dengan unit N-metil pirrolidine di rantai samping juga telah diisolasi dari spons laut *Corticium* sp. (Borbon et al., 2002).

Pada tahun 1970, F. Khuong Huu menyarankan bahwa sistem 9b,19-cyclo reaktif yang ditemui di beberapa alkaloid *Buxus* mungkin merupakan prekursor biogenetik dari sistem abeo-9(10-19)-diene yang dikonjugasikan. Selanjutnya, banyak alkaloid stigmastane terisolasi dari spons laut *Corticium* sp. memiliki moiety 7-ene. Atas dasar informasi ini, cortistatins dianggap biosintesis dari 3,29-diaminosterol cortistatin A.

Berdasarkan proses biogenesisnya, sistem abeo-9(10-19)-diene terbentuk dari cortistatin A melalui sistem 9b,19-cyclo. Kemudian, unit 6-ene dioksidasi untuk membentuk sistem cincin 5,8-oksida. Di sisi lain, rantai samping jenis piperidine dalam cortistatin terbentuk dari siklonisasi kelompok 29-amino dalam cortistatin A. Kemudian, unit piperidine mengalami dehidrasi untuk membeli unit 3-metil-piridine, yang selanjutnya dikonversi menjadi unit isokuin dengan siklonisasi dan demetilasi kelompok metil C-21 atau C-26.

**Bioaktivitas:** Cortistatin A menunjukkan aktivitas anti-proliferatif sitostasi terhadap HUVEC pada konsentrasi jarak sangat luas (100 pM - 1 mM), di mana indeks selektif lebih dari 3000 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan indeks fibroblas dermal manusia normal (NHDF) dan beberapa sel tumor [sel karsinoma epidermoid KB (KB3-1), sel leukemia myelogenous kronis manusia (K562), dan sel toma neuroblas murine (Neuro2A)]. Sebaliknya, cortistatins E, F, G, dan H hanya menunjukkan aktivitas anti-proliferatif yang lemah (IC<sub>50</sub> 0,35-1,9 mM) terhadap HUVEC dan tidak ada selektivitas antara HUVEC dan garis sel lainnya. Kemudian, diol di cincin A dan/atau unit isokuinolin dalam rantai samping mungkin

penting untuk sifat anti-proliferasi yang sangat selektif dari Cortistatin A.

### 3.2 Aaptamine

**Sumber** Pada kajian sebelumnya, Aaptamine, alkaloid benzonaphthyridine diisolasi dari spons laut dengan panduan bioassay menggunakan sel MG63 osteosarcoma manusia yang ditransfeksi (MG63luc+). Promotor p21 teraktivasi Aaptamine secara stabil ditransfusikan dalam sel MG63 tergantung dosis pada konsentrasi 20-50  $\mu\text{M}$ . Ekspresi p21 dan mRNA-nya dalam sel MG63 tipe liar juga meningkat dengan pengobatan aaptamine. Selanjutnya, siklus sel sel MG63 ditangkap pada fase G2/M dalam waktu 48 jam dengan pengobatan aaptamine. Untuk menganalisis elemen responsif promotor p21 dalam up-regulasi p21 oleh aaptamine, sel-sel MG63 ditransfeksi secara sementara dengan serangkaian segmen promotor yang dihapus atau bermutasi, dan induksi luciferase dengan pengobatan aaptamine diperiksa dengan menggunakan sel-sel transfeksi yang sesuai ini. Aktivasi promotor p21 oleh aaptamine dipimpin melalui aksi situs Sp1 antara -82 dan -50 bp secara p53-independen.

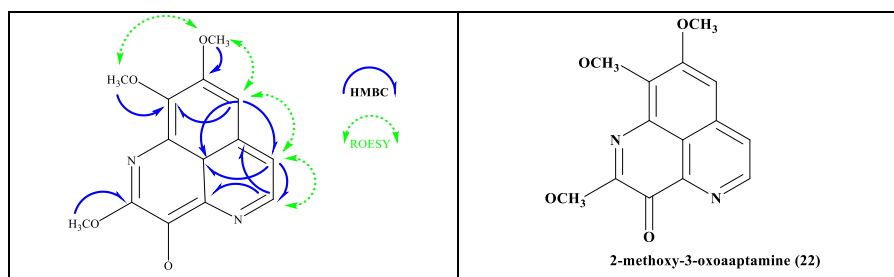
**Struktur** Senyawa aaptamine baru kelas alkaloid sebagai 2-metoksi-3-oxoaaptamine [22], berhasil diisolasi bersama-sama dengan tujuh dikenal aaptamin (23-29) dari spons, *Aaptos* sp. sebagai zat anti mikobakteri terhadap basil aktif dan dorman. Senyawa 22 bersifat antimikobakteri terhadap *mycobacterium smegmatis* baik pada kondisi hipoksia yang tumbuh aktif maupun yang menyebabkan dormansi dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 6,25  $\mu\text{g/ml}$ , dan senyawa 2, 5, 6, dan 7 menunjukkan aktivitas antimikobakteri di bawah kondisi hipoksia secara selektif, dengan nilai MIC 1,5-6,25  $\mu\text{g/ml}$ .

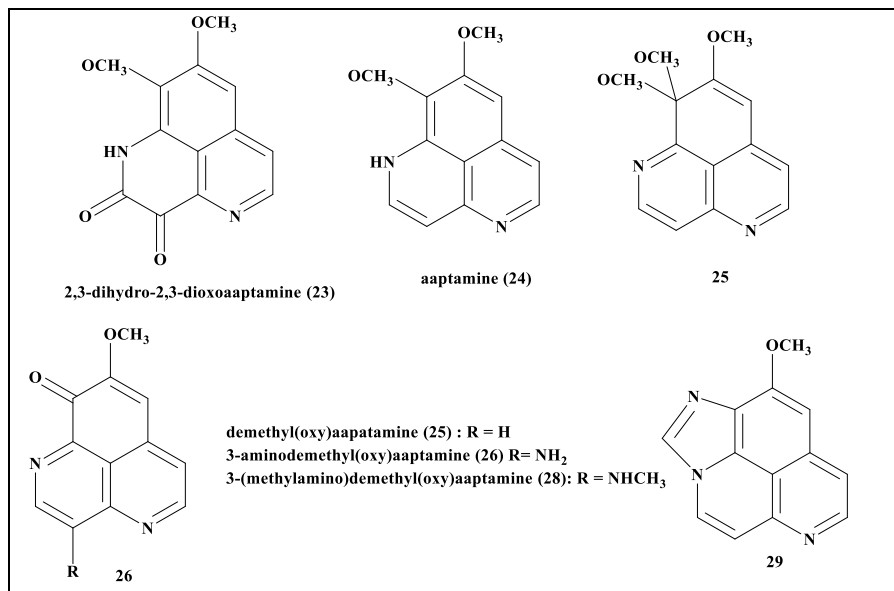
Senyawa 22 diperoleh sebagai padatan amorf berwarna kuning. Hasil analisis ESI-TOF-MS senyawa 22 memperlihatkan kuasi molukular puncak ion  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pada  $m/z$  295, dan berdasarkan analisis HR-ESITOF-MS diperoleh molekul



formula  $C_{14}H_{12}N_2O_4$ . Keterkaitan hubungan atom atom **22** ditentukan berdasarkan interpretasi spektrum NMR.

Hasil pengujian  $^1H$ -NMR spektrum **22**, teramati signal proton pada  $\delta_H$  8,07 and 8,85 (masing masing  $^1H$ , doublet,  $J=4,8$  Hz), bersama dengan satu singlet terisolasi pada  $\delta_H$  7,45 ( $1H$ , singlet), mirip dengan alkaloid aptamin yang memiliki krangka struktur benzo[*de*] [1,6] naphthyridine. Senyawa **22** juga menunjukkan tiga sinyal metoksil yang diamati pada  $\delta_H$  3,97,  $\delta_H$  4,01, dan  $\delta_H$  4,38 (masing-masing  $3H$ , singlet). Selain itu, memiliki serapan IR pada  $1670\text{ cm}^{-1}$  dan sinyal pada  $172,0$  ppm dalam spektrum  $^{13}C$ -NMR menunjukkan adanya gugus karbonil. Kemudian, korelasi HMBC antara  $\delta_H$  3,97 dan  $\delta_C$  156, (C-8);  $\delta_H$  4,38 dan  $\delta_C$  149,0 (C-9) menunjukkan bahwa dua dari tiga gugus metoksil diposisikan pada C-8 dan C-9. Korelasi ROESY dari H-5 ( $\delta_H$  8,85) dan H-7 ( $\delta_H$  7,45) hingga H-6 ( $\delta_H$  8,07); dari proton metoksil ( $\delta_H$  4,38) dan H-7 ( $\delta_H$  7,45) ke proton metoksil lainnya ( $\delta_H$  3,97) juga mendukung posisi gugus metoksil yang ada. Selain itu, sepuluh ketidakjenuhan dan korelasi HMBC antara  $\delta_H$  4,01 dan C 156,3 (C-2) seperti yang ditunjukkan pada Gambar. 15a memberikan struktur kimia (2-metoksi-3-oxoaaptamine) untuk senyawa **22**.





**Gambar 15.** Variasi struktur molekul aptamine

**Bioaktivitas:** Tuberkulosis (TB) adalah salah satu penyebab paling umum morbiditas dan mortalitas pada orang dewasa HIV-positif yang hidup dalam kemiskinan. Pada tahun 2011 diperkirakan terdapat jutaan kasus TB baru dan di tahun 2012 WHO telah menyatakan 1,4 juta kematian akibat TB. Berdasarkan kondisi yang ada secara umum telah diterima bahwa minimal 6 bulan diperlukan untuk pengobatan TB. Hal ini tentunya dikarenakan sulitnya memberantas *Mycobacterium tuberculosis* persisten yang tidak bereplikasi.

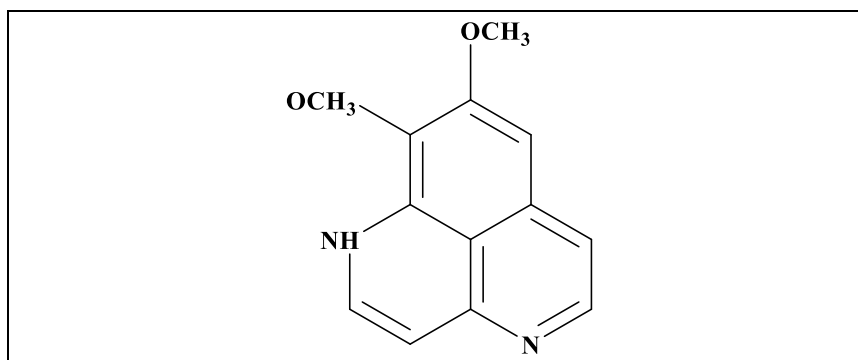
Oleh karena itu, senyawa baru yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* baik dalam keadaan aktif maupun dorman sangat dibutuhkan. Meskipun fisiologi infeksi *M. tuberculosis* laten masih belum jelas, kondisi hipoksia telah ditemukan untuk menginduksi keadaan dorman *Mycobacterium* sp., yang memiliki profil kerentanan obat yang mirip dengan infeksi *M. tuberculosis* laten.

Berdasarkan latar belakang ini, maka diperlukan sistem penapisan baru untuk mencari zat yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap mikobakteri yang tidak aktif. Senyawa

yang memiliki aktivitas tersebut antara lain halicyclamine (alkaloid makrosiklik) dari spons laut *Haliclona* sp. [Arai, et al. 2009 ], senyawa trichoderins (aminolipopeptida baru) dari kultur jamur turunan spons laut *Trichoderma* sp. [Purksakorn et al., 2010],. Senyawa aktif tersebut diperoleh berdasarkan teknik pemisahan ekstrak spons yang dipandu bioassay.

Dalam penyaringan lanjutan organisme laut, alkaloid kelas aaptamine baru, bernama 2-metoksi-3-oxoaaptamine [22], bersama dengan tujuh aaptamin yang diketahui [23- 29] diisolasi dari spons laut Indonesia *Aaptos* sp. Dalam buku ini, kami menyajikan penjelasan struktur senyawa 22 dan aktivitas antimikroba terhadap *M. smegmatis* dari senyawa yang diisolasi.

Penentuan nilai MIC terhadap *M. smegmatis* dilakukan dengan metode MTT yang telah divalidasi (16). Fase mid-log *M. smegmatis* ( $1 \times 10^4$  CFU/0,1 ml) diinokulasi dalam pelat 96-sumur, dan kemudian sampel encer serial ditambahkan ke pelat 96-sumur. Untuk kondisi aerobik, bakteri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, sedangkan model hipoksia dilakukan berdasarkan deskripsi oleh (Rustad et al., 2008) dengan sedikit modifikasi. Basil mikobakteri ditumbuhkan dalam kaldu Middlebrook 7H9 pada suhu 37 °C di bawah atmosfer nitrogen yang mengandung 0,2% oksigen sampai kepadatan optik mencapai 0,8 pada 600 nm. Basil kemudian diinokulasi ke pelat 96-sumur dengan kepadatan yang sama dengan kondisi aerobik dan diinkubasi pada 37 °C di bawah atmosfer nitrogen yang mengandung oksigen 0,2% selama 96 jam. Setelah inkubasi, 50 µl larutan MTT (0,5 mg/ml) ditambahkan ke setiap sumur dan diinkubasi pada 37 °C selama 12 jam tambahan dalam kondisi aerobik atau hipoksia. Kepadatan optik pada 560 nm diukur untuk menentukan nilai MIC.



**Gambar 16.** Chemical structure of aaptamine [22]

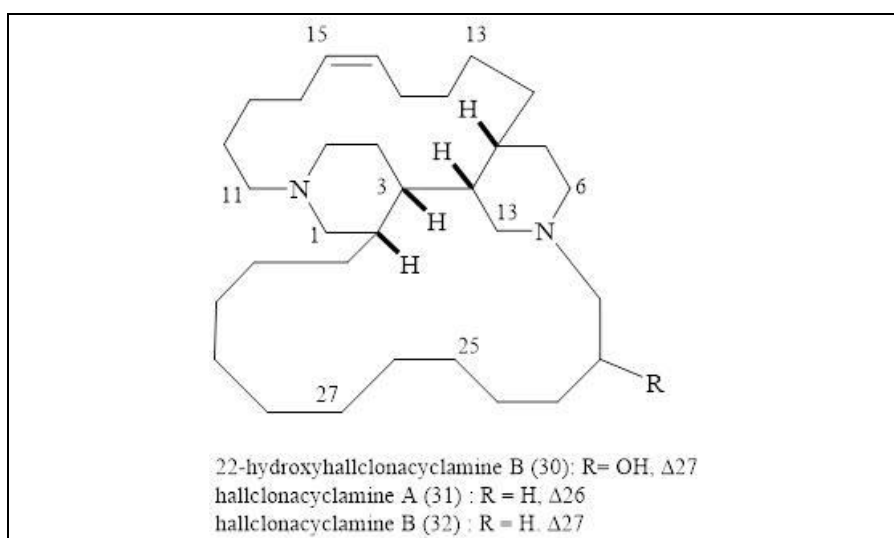
### 3.3 Haliclونamine

**Riwayat:** Alkaloid alkilpiperidine tetrasiklik baru, 22-hydroxy haliclونacyclamine B [30], bersama dengan dua alkaloid yang diketahui, haliclونacyclamine A [31] dan B [32], diisolasi dari spons laut *Haliclona* sp. sebagai zat anti-dormant mikobakteri (Arai et al., 2009). Struktur kimia senyawa 30 ditentukan berdasarkan studi spektroskopi. Senyawa 31 dan 32 menunjukkan aktivitas anti-mikobakteri yang kuat terhadap *Mycobacterium smegmatis* dan *M. bovis Bacille de Calmette et Guérin* (BCG) baik dalam kondisi aerobik dan kondisi hipoksia yang menginduksi keadaan dorman dengan konsentrasi penghambatan minimum (MIC) dalam kisaran 1,0-2,5 µg/ml. Selain itu, aktivitas anti-mikroba senyawa 3 bersifat bakterisida terhadap *M. bovis* BCG baik dalam kondisi aerobik maupun hipoksia. Gugus 22-hidroksi dalam pada struktur 30 ditemukan dapat mengurangi aktivitas anti-mikobakteri, karena senyawa 30 menunjukkan aktivitas anti-mikroba yang lebih lemah terhadap basil *Mycobacterium* dengan MIC dalam kisaran 12,5-50 µg/mL

**Struktur** Struktur baru senyawa 30 diperoleh berbentuk padatan tak berwarna. Hasil analisis spektrum ESI-TOF-MS dari 30 menunjukkan puncak ion kuasi-molekul

[M+H]<sup>+</sup> pada m / z 485, yang lebih besar dari 3 oleh 16 amu, dan formula molekul ditentukan sebagai C<sub>32</sub>H<sub>56</sub>N<sub>2</sub>O dengan resolusi tinggi (HR-) ESI-TOF-MS dan analisis NMR. Informasi serapan IR pada 3412 cm<sup>-1</sup> mendukung adanya gugus hidroksil pada struktur **30**. Lebih lanjut interpretasi data spektra <sup>1</sup>H- dan <sup>13</sup>C-NMR senyawa **30** menunjukkan sinyal yang disebabkan oleh keberadaan empat proton olefinik ( $\delta_H$  5,31, 5,32, 5,41, 5,41), empat karbon olefinik ( $\delta_C$  130,8, 132,6, 131,0, 130,7), enam karbon aminometilen ( $\delta_C$  52,6, 49,8, 68,7, 69,0, 57,0, 74,0), dan karbon oksimpesin ( $\delta_C$  71,5) sangat mirip dengan senyawa **32**, kecuali sinyal yang berdekatan dengan C-22.

Untuk mendapatkan informasi struktur parsial (A, B) pada senyawa **30** diperlukan analisis COSY dan HSQC. Selanjutnya hubungan struktur parsial tersebut dianalisis berdasarkan korelasi HMBC. Lebih lanjut, untuk menentukan stereostruktur relatif **30** diungkapkan melalui korelasi ROESY antara H-5a, H-3 dan H-1a; H-3, H-2, H-7 dan H-9; H-7 dan H-6b; H-10a dan H-6a. Sebagai informasi, stereokimia untuk gugus 22-hidroksi tidak dapat dilakukan karena keterbatasan sampel yang terisolasi.



**Gambar 17.** Struktur senyawa 30-32

**Bioaktivitas:** *M. tuberculosis* pada kondisi tidak aktif (dormansi) sangat tahan terhadap isoniazid, yang merupakan obat konvensional dan menghambat inhA dari enzim biosintetik asam lemak tipe II.3—5,8) Nilai MIC isoniazid terhadap *M. smegmatis* dan *M. bovis Bacille de Calmette et Guérin* (BCG) adalah 2,5 dan 0,03 mg/ml aerobik Sementara, nilai MIC isoniazid terhadap strain ini lebih dari 25 µg/ml di bawah atmosfer nitrogen yang mengandung oksigen 0,2%. Di sisi lain, nilai MIC haliclonacyclamines A (2) dan B (3) masing-masing 2,5 dan 1,0 µg/ml terhadap *M. smegmatis* dan *M. bovis* BCG dalam kondisi aerobik dan hipoksia. Melalui kajian ini diperoleh informasi bahwa bahwa senyawa **31** dan **32** efektif melawan *Mycobacterium* sp. dalam keadaan aktif tumbuh dan keadaan tidak aktif. Di sisi lain, 22-hydroxyhaliclonacyclamine B (**30**) menunjukkan aktivitas antimikobakteri yang lebih lemah dengan IC di kisaran 12,5— 50 µg/ml. Hasil ini mengarahkan bahwa keberadaan gugus 22-hidroksi dalam 30 menyebabkan berkurang aktivitas anti-mycobacterial. Namun hingga saat ini, penjelasan mengapa hal tersebut terjadi masih belum jelas. Selain itu, untuk memeriksa apakah aktivitas anti-mycobacterial haliclonacyclamine adalah bakterisida atau bakteriostatik, kolonisasi forming unit (CFU) assay juga dilakukan menggunakan senyawa **32** dalam kondisi aerobik dan hipoksia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aoki, S., Watanabe, Y., Sanagawa, M., **Setiawan, A.**, Kotoku, N., & Kobayashi, M. (2006). Cortistatins A, B, C, and D, anti-angiogenic steroidal alkaloids, from the marine sponge *Corticium simplex*. *Journal of the American Chemical Society*, 128(10), 3148-3149.
- Aoki, S., Kong, D., Hideaki Suna, Sowa, Y., Sakai, T., **Setiawan A.**, Kobayashi, M. (2006) Aaptamine, a spongean alkaloid, activates p21 promoter in a p53-independent manner, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 342, (1), 101-106
- Arai, M., Han, C., Yamano, Y., **Setiawan, A.**, & Kobayashi, M. (2014). Aaptamines, marine spongean alkaloids, as anti-dormant mycobacterial substances. *Journal of natural medicines*, 68(2), 372-376.
- Arai, M., Ishida, S., Setiawan, A., & Kobayashi, M. (2009). Haliclonyclamines, tetracyclic alkylo-piperidine alkaloids, as anti-dormant mycobacterial substances from a marine sponge of *Haliclona* sp. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57(10), 1136-1138.
- Borbone, N., De Marino, S., Iorizzi, M., Zollo, F., Debitus, C., Esposito, G., & Iuvone, T. (2002). Minor steroidal alkaloids from the marine sponge *Corticium* sp. *Journal of natural products*, 65(8), 1206-1209.

- De Marino, S., Zollo, F., Iorizzi, M., & Debitus, C. (1998). A new steroidal alkaloid from a marine sponge *Corticium* sp. *Tetrahedron letters*, 39(41), 7611-7614.
- Rustad, T. R., Sherrid, A. M., Minch, K. J., & Sherman, D. R. (2009). Hypoxia: a window into *Mycobacterium tuberculosis* latency. *Cellular microbiology*, 11(8), 1151-1159.
- Shamma M, Georgiev VS, Miana, G. A., & Khan, F. S. (1973). Three new alkaloids from *Buxus papillosa*. *Phytochemistry*, 1973 12(8), 2051-2054.
- Watanabe, Y., Aoki, S., Tanabe, D., **Setiawan, A.**, Kobayashi M. (2007) Cortistatins E, F, G, and H, four novel steroidal alkaloids from marine sponge *Corticium simplex*, *Tetrahedron*, 63, (19):4074-4079.



## BAB 4. POLIKETIDA

Polyketida merupakan kelompok metabolit sekunder yang dihasilkan oleh berbagai organisme hidup termasuk spons. Kelompok senyawa ini mewakili kelas besar lain dari senyawa bioaktif termasuk makrolida. Senyawa poliketida yang memiliki sifat antibiotik bertindak dengan mengikat subunit 50S rRNA selama sintesis protein (Neal 2012). Polyketides mewakili salah satu kelas yang paling menarik dari spons laut baru yang berasal metabolit sekunder dari perspektif penemuan timbal. Namun beberapa poliketida yang diisolasi dari spons sekarang diketahui diproduksi oleh mikroorganisme terkait yang menginduksi swinholide A (Bewley et al. 1996), onnamide (Piel et al. 2004) dan pymberein (Fisch et al., 2009). Hasil kajian selama ini telah membuktikan bahwa, mikroorganisme diidentifikasi sebagai sumber senyawa ini berdasarkan hasil pemetaan genom dari kedua spons induk dan spesies bakteri terkait / simbiosis. Namun, penelitian lain menunjukkan bahwa beberapa spesies spons mungkin dalam beberapa kasus masih bertanggung jawab untuk sintesis poliketida dengan menjalankan sekuensing paralel gen biosintesis poliketide dari spons induk dan symbiote mikroba (Sala et al. 2014). Pada Bab ini akan dibahas beberapa senyawa polipeptida yang di dapat dari spons perairan Indonesia.

### 4.1 Bitungolide

Serangkaian polyketides unik, bitungolides A-F [33-38] telah diisolasi dari spons Indonesia, *Theonella cf. swinhoei* [Sirirath]. Struktur bitungolide A [33] ditentukan dengan metoda sinar-X dan sisanya oleh korelasi spektroskopi NMR. Meskipun bitungolide adalah senyawa pertama dari sumber laut, mereka berbagi unsur struktural yang sama dengan metabolit mikroba, pironetin [39] yang dikenal sebagai obat penargetan mikrotubulus dan foslactomycin, inhibitor fosfatase. Bitungolides menunjukkan aktivitas sedang dan

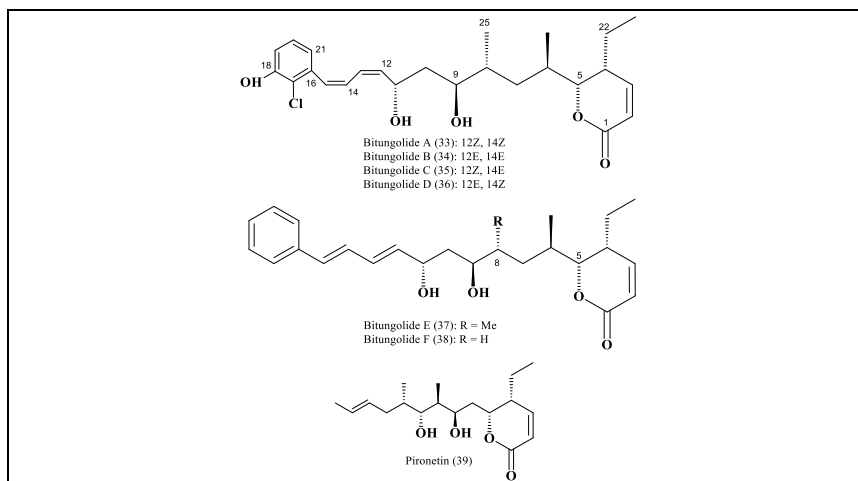
selektif terhadap laksusus dual-spesifisitas, tetapi tidak ada aktivitas melawan mikrotubulus.

Sampel spons (2,7 kg, wt kering) diperoleh dari kawasan di terumbu karang (-10 hingga -20 m) di sepanjang Selat Lembeh di Bitung, Pulau Sulawesi, Indonesia, pada bulan Agustus 1999. Spesimen itu dikeringkan dibawa ke Okinawa untuk dianalisis. Spesimen voucher (QMG318533) telah disimpan di Museum Queensland, Brisbane Selatan, Australia. Spons itu awalnya diidentifikasi sebagai *Theonella swinhoei* oleh Dr. John N. A. Hooper dari Queensland Museum. Namun, karena memiliki beberapa fitur morfologi yang berbeda, yaitu tekstur yang lebih keras dan area keterikatan yang lebih kecil dengan substratum, dari spesimen *T. swinhoei* yang dikumpulkan di beberapa daerah di Indo-Pasifik, kami memutuskan untuk menunjuk sampel saat ini sebagai *Theonella cf. swinhoei* setelah berdiskusi dengan Dr. Hooper.

Sampel spons diekstraksi dengan MeOH tiga kali. Setelah filtrasi dan konsumrasi, residu yang dihasilkan dipartisi antara CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dan air untuk memberikan 13,50 g (0,50%) dari minyak hijau gelap. Minyak ini pertama kali dipisahkan oleh kromatografi flash vakum pada eluting gel silika dengan gradien langkah heksanes, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, dan MeOH untuk hingga didapat 10 fraksi. Fraksi ketujuh (1,40 g) berulang kali dipisahkan dengan gel silika kemudian diikuti dengan pemurnian secara HPLC fase terbalik (MeOH-HO, 7: 3) hingga di dapat senyawa **33**, **34**, **36**, **37**, dan **38**. Pemisahan fraksi 8 dan 9 yang serupa memberi senyawa **35** dan jumlah tambahan dari senyawa lainnya.

Bitungolide A [**33**] menunjukkan ion pseudomolekuler pada m/z 447 ([M-H]) dan 449 (3:1) dalam ion negatif FABMS, yang menunjukkan adanya atom klorin. Rumus molekul C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>ClO<sub>5</sub> ditentukan oleh HRFABMS ( $\Delta +2,8$  mmu). Spektrum IR dan NMR senyawa **33** memberikan informasi adanya lakton tak jenuh, dua gugus hidroksil sekunder, dua metil sekunder, dan satu etil bersama dengan 12 karbon sp<sup>2</sup>. Analisis data NMR 2D memungkinkan untuk memastikan adanya sinyal karbon sp<sup>2</sup> dari benzena tersubstitusi 1,2,3, diena, dan ikatan rangkap yang terkonjugasi dengan karbonil lakton. Geometri kedua

ikatan rangkap dalam diena ditunjukkan sebagai Z dengan konstanta kopling ( $J_{12,13} = 11,5 \text{ Hz}$ ,  $J_{14,15} = 11,3 \text{ Hz}$ ). Struktur kasar dari **33** ditetapkan dengan menghubungkan unit-unit struktural ini dengan bagian molekul yang tersisa berdasarkan data analisis 2D NMR. Konfirmasi struktur diberikan oleh studi difraksi sinar-X kristal tunggal yang secara simultan menentukan stereokimia absolute senyawa **33** (Gambar 13).



**Gambar 18.** Struktur molekul bitungolide dan analognya

Rumus molekul bitungolide E [**37**],  $C_{25}H_{34}O_4$  ( $\Delta -2,7$  mmu), menunjukkan tidak adanya atom klorin dan salah satu oksigen yang ditemukan pada bitungolide **33-36**. Analisis spektrum NMR memperlihatkan senyawa **37** memiliki gugus benzena monosubstitusi ( $\delta_H$  7,23, 7,31, 7,39;  $\delta_C$  126,3, 127,5, 128,6, 137,2) bukannya 2,3- fenol tersubstitusi seperti pada senyawa **33-36**. Hal ini menegaskan bahwa senyawa **37** memiliki perbedaan pada bagian aromatik. Kesamaan, dari sinyal NMR untuk bagian molekul yang tersisa dengan bitungolide B [**34**] dan analisis NMR 2D memungkinkan untuk menetapkan struktur **37** sebagai bitungolide E.

Pada analisis berikutnya, Bitungolide F [**38**] dianalisis dengan HRAPCIMS sehingga ditetapkan memiliki rumus

molekul  $C_{24}H_{32}O_4$  ( $\Delta$  -2,2 mmu) . Spektrum NMR senyawa **38** menunjukkan adanya dua metil ( $\delta_H$  11,0, 14,9) dan empat metilen ( $\delta_H$  20,1, 28,5, 34,5, 42,6) bukannya tiga metil dan tiga metilen seperti pada senyawa **37**. Perbedaan ini menunjukkan bahwa **38** merupakan turunan demetil dari **37**. Posisi demetilasi pada **38** ditentukan berada pada C-8 berdasarkan konektivitas COSY antara karbon C-5-C-11 dengan proton (H-5/H-6, H-6 .H-7b, 24, H-7a/H-7b, 8ab, H-7b/H-8ab, H-8a/H-8b,9, H-8b/H-9, H-9/H-10ab , dan H-10ab/H-11). Kemudian dilanjutkan dengan analisis HMBC (C-6/H-5,7a,24, C-7/H-5, 8ab, 24, C-8/H-7b,10ab, C-9 /H-8ab, 10ab,11, C-10/H-8ab, 11,12). Karena sinyal NMR yang tersisa untuk gugus lakton dan aromatik hampir identik dengan sinyal **37**, maka senyawa **38** dinyatakan menjadi 8-demethylbitungolide E.

Bitungolides memiliki fitur struktural yang mengingatkan pada pironetin [**39**], yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antitumor dengan menangkap siklus sel pada fase M. Ketika bitungolide diuji terhadap sel fibroblast normal tikus 3Y1, efek sitotoksik diamati pada 10  $\mu$ g / mL. Senyawa **39** tidak bekerja pada sitoskeleton (mikrotubulus dan aktin), dan tidak ada perubahan morfologis pada inti yang diamati.

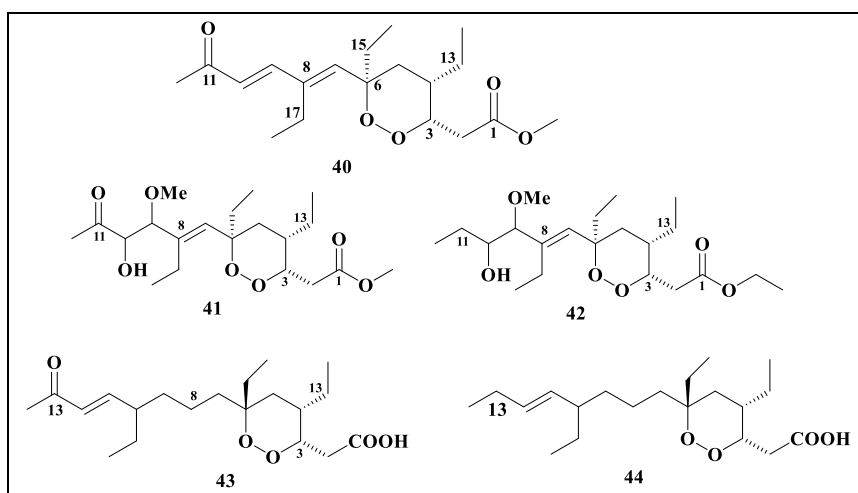
Dalam tes dengan fosfatase, senyawa senyawa tersebut menunjukkan aktivitas yang lemah terhadap *dual-specificity phosphatase* (VHR), namun tidak ada aktivitas yang diamati terhadap serine / threonine phosphatase (PP1 dan PP2A) atau tirosin fosfatase (PTP-S2).

#### 4.2 Manadodioxan

**Sumber:** Spons laut dari genus *Plakortis* diketahui mengandung siklonoksida stabil, dan sebagian besar senyawa mereka memiliki cincin 1,2-dioksan, diganti dengan gugus asetat pada C-3 dan tiga fungsi pada C-4, C-6, dan C-6. Kajian awal senyawa bioaktif dari hasil isolasi (Higgs, 1978) dari spons Karibia *Plakortis halichondrioides*, beberapa senyawa yang mengandung karakteristik cycloperoxides telah berhasil

diidentifikasi, termasuk plakortolide (Davidson, 1991). dan kelompok senyawa sejenis yang memiliki berbagai aktivitas.

Selanjutnya, kelompok peneliti dari Jepang bekerja sama dengan kelompok peneliti dari Universitas Samratulangi juga melakukan kajian terhadap sponge perairan Manado. Kelompok peneliti tersebut melakukan skrining aktivitas antimikroba organisme laut, dan berhasil menemukan bahwa spons *P. bergquistae*, yang dikumpulkan di perairan Indonesia, menunjukkan aktivitas antibakteri. Mereka melaporkan isolasi dan penjelasan struktur dari lima endoperoksida poliketida baru, manadodioxans A-E [40-44] seperti terlihat pada Gambar 19 (Gushiken et al., 2015).



**Gambar 19.** Struktur Molekul Manadodioxan 40-44

**Struktur:** Manadodioxan A (40) memiliki rumus molekul  $C_{19}H_{30}O_5$ , yang ditentukan dengan spektrometri massa electrospray ionisasi resolusi tinggi (HRESIMS) dan stereostruktur ditentukan berdasarkan analisis 1D dan 2D NMR. Keberadaan cincin 1,2 dioxane 4 gugus alikil dianalisis menggunakan teknik COSY dan HMBC. Untuk bentuk geometri pada ikatan rangkap diperoleh dari hasil analisis NOE. Melalui

pendekatan yang sama mereka berhasil menentukan struktur senyawa **41-44**.

**Bioaktivitas:** Aktivitas antimikroba manadodioxans D [43] dan E [44] diuji terhadap bakteri, *Escherichia* dan *Bacillus cereus*, jamur, *Candida albicans*, dan ragi, *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan metode disk kertas. Sebagai catatan senyawa **40-42** tidak di uji karena keterbatasan jumlah sehingga aktivitas antimikroba ketiga senyawa tersebut belum ada informasinya. Senyawa 43 lebih ampuh menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif, *E. coli*, dari pada bakteri Gram-negatif, *B. cereus*, tetapi tidak aktif untuk *C. albicans* dan *S. cerevisiae* pada 10 µg / disk. Di sisi lain, senyawa **44** tidak aktif untuk empat mikroorganisme yang diuji dalam penelitian ini. Hal yang menarik disini adalah kehadiran kelompok karbonil di C-13 dalam senyawa **44** keterkaitannya dengan aktivitas antimikroba masih belum dapat dijelaskan.

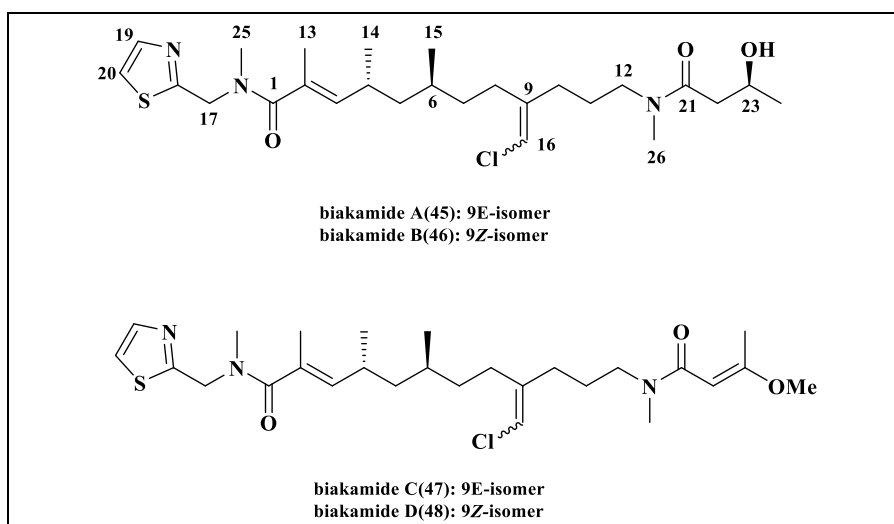
### 4.3 Biakamide

**Sumber** Biakamides A–D [45-48], novel poliketida unik yang luar biasa, diisolasi dari spons laut perairan Biak, Indonesia (*Petrosaspongia* sp.) dengan bioassay yang dibangun menggunakan sel kanker pankreas manusia PANC-1. Melalui analisis terperinci dari spektra NMR satu dan dua dimensi biakamides, struktur kimia planar yang memiliki thiazole terminal, dua tengah N-metil, klorometilen, dan moiety butyryl pengganti berhasil di tentukan.

Konfigurasi moiety alkohol sekunder di biakamides A [45] dan B [46] berdasarkan data hasil elusidasi struktur menggunakan NMR. Untuk stereostruktur absolut dari dua kelompok metil sekunder di biakamides **46-49** ditentukan oleh sintesis total asimetris dari semua stereoisomer yang mungkin dari monoprotected optik murni 2,4-dimethyl-1,5-diol. Biakamide **45-48** menunjukkan bioaktivitas antiproliferatif selektif terhadap sel PANC-1 yang berbu di

bawah kondisi kekurangan glukosa dengan cara yang tergantung pada konsentrasi. Modus utama aksi biakamides ditemukan penghambatan kompleks I dalam rantai pengangkutan elektron mitokondria.

**Struktur** Hasil analisis senyawa **45** menggunakan MALDI-TOF MS menunjukkan puncak ion pseudomolekuler pada  $m/z$  534 dan 536  $[M + Na]^+$  dengan rasio 3:1. Data-data ini mengindikasikan adanya atom klorin dalam molekul ini. Rumus molekul **45** ditentukan sebagai  $C_{26}H_{42}O_3N_3SCl$  menggunakan spektroskopi massa dengan resolusi tinggi (HR) MALDI-TOF MS, menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki tujuh setara obligasi ganda. Banyak sinyal dalam spektra  $^1H$  dan  $^{13}C$  NMR 1 diperluas secara anomali, terlepas dari pelarut, dan beberapa lainnya diamati sebagai sinyal ganda (Gambar 20). Analisis singkat dari spektra NMR dua dimensi (2D) menunjukkan bahwa dua moieties N-methylamide terkandung dalam molekul, menyiratkan adanya pembaharuan cis / trans yang dapat dibedakan. Dengan demikian, elukdasi struktur **45** ditetapkan berdasarkan interpretasi sinyal NMR dari masing-masing konformer seperti yang dijelaskan di bawah ini.



**Gambar 20.** Struktur Kimia Biakamide A (45), B (46), C (47), and D (48).

Analisis spektra  $^{13}\text{C}$  NMR dan HSQC dari **45** mengungkapkan bahwa molekul ini terdiri dari enam metil (empat alifatik dan dua pengganti nitrogen), delapan methylenes (enam alifatik dan dua pengganti heteroatom), tujuh metines (dua alifatik, satu oksmethine, dan empat olefinik), dan lima karbon quaternary (dua olefinik dan tiga kemungkinan karbonil). Analisis terperinci dari beberapa spektra NMR 2D (COSY, HSQC, dan HMBC) dari **45** menunjukkan adanya tujuh struktur parsial A–G.

**Total sintesis.** Berdasarkan uraian di atas, penentuan struktur molekul didapat dari informasi spectrum NMR, namun pada keadaan tertentu perlu dilakukan dengan cara lain seperti melakukan derivatisasi atau total sintesis. Dalam hal ini, total sintesis **45–48** bertujuan untuk menentukan struktur stereo relatif / absolut dari dua gugus metil sekunder pada C-4 dan C-6 untuk **45–48**. Seperti dijelaskan di atas, sinyal  $^1\text{H}$  NMR pada posisi C-4 hingga C-7 di biakamide terlalu diperluas, dan kami tidak dapat menerapkan metode empiris 27,28 untuk menganalisis perbedaan pergeseran kimia  $^1\text{H}$  NMR.

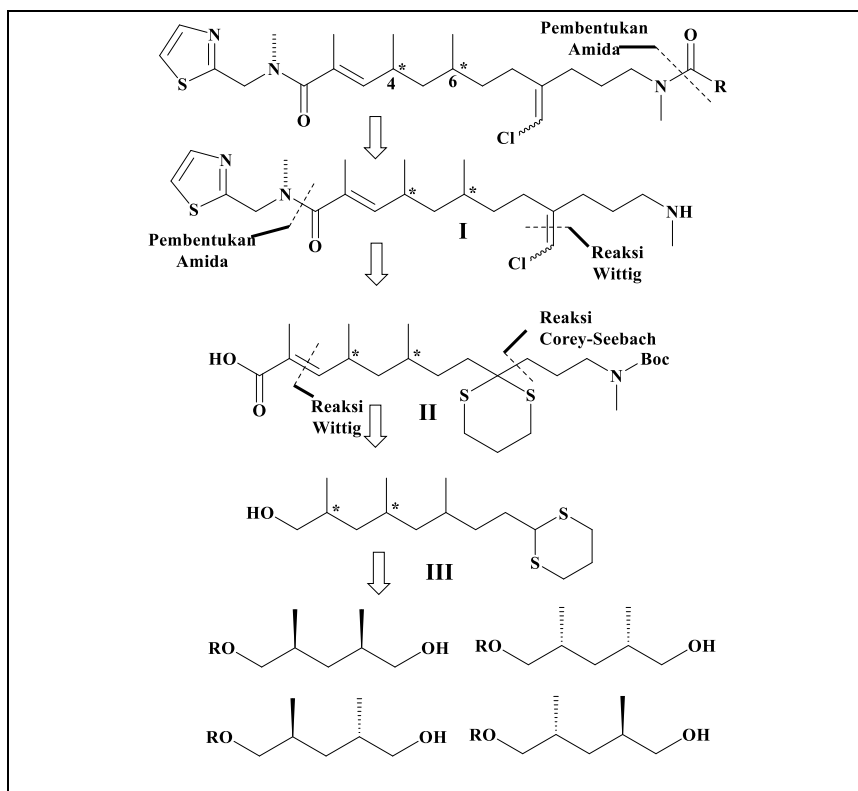
Dengan demikian, kami memutuskan untuk melakukan sintesis total **45–48** untuk menentukan struktur stereo absolut dari moieties ini dan menghasilkan jumlah senyawa yang cukup untuk analisis biologis lebih lanjut.

Garis besar rencana sintesis kami digambarkan dalam Gambar 21. Untuk mendapatkan semua stereoisomer yang mungkin dari **45–8**, kami berencana untuk menggunakan monoprotected 2,4-dimethyl-1,5-pentanediol sebagai chiral auxiliary, yang dapat diperoleh dalam bentuk chiral murni melalui desymmetrization enzimatik yang dikenal dan resolusi chiral dari syn-and anti-isomer, masing-masing.

Kerangka poliketida pusat **II** dapat disiapkan melalui reaksi kopling Corey-Seebach 30 antara 1,3-dithiane **III** dan alkil halida yang mengandung nitrogen, dan pengenalan berturut-turut berikutnya dari amida tak jenuh dan moieties klorometilena diharapkan untuk memberikan prekursor umum



I biakamides. Amilasi akhir menggunakan asam karboksilat yang sesuai akan mampu mendapatkan **45–48**.



**Gambar 21.** Retrosintesis biakamide.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chianese G, Persico M, Yang F, Lin HW, Guo YW, Basilico N, Parapini S, Taramelli D, Taglialatela-Scafati O, Fattorusso C (2014) Endoperoxide polyketides from a Chinese *Plakortis simplex*: further evidence of the impact of stereochemistry on antimalarial activity of simple 1,2-dioxanes. *Bioorganic medicinal chemistry*, 22, 4572–4580.
- Davidson B. S., (1991) Plakortolide, a cytotoxic peroxy lactone from a *Plakortis* sponge. *Tetrahedron letters*, 32, 7167–7170.
- Fattorusso C, Persico M, Calcinai B, Cerrano C, Parapini S, Taramelli D, Novellino E, Romano A, Scala F, Fattorusso E, Taglialatela-Scafati O (2010) Manadoperoxides A-D from the Indonesian sponge *Plakortis* cfr. *simplex*. Further insights on the structure-activity relationships of simple 1,2-dioxane antimalarials. *Journal of natural products* 73, 1138–1145.
- Gushiken, M., Kagiya, I., Kato, H., Kuwana, T., Losung, F., Mangindaan, R. E., ... & Tsukamoto, S. (2015). Manadodioxans A– E: polyketide endoperoxides from the marine sponge *Plakortis bergquistae*. *Journal of natural medicines*, 69(4), 595-600.
- Higgs MD, Faulkner D. (1978). Plakortin, an antibiotic from *Plakortis halichondrioides*. *Journal of organic chemistry*, 43, 3454–3457.
- Kossuga MH, Nascimento AM, Reimao JQ, Tempone AG, Taniwaki NN, Veloso K, Ferreira AG, Cavalcanti BC, Pessoa C, Moraes MO, Mayer AMS, Hajdu E, Berlinck RGS (2008)

Antiparasitic, antineuroinflammatory, and cytotoxic polyketides from the marine sponge *Plakortis angulospiculatus* collected in Brazil. *Journal of natural products*, 71:334–339.

Kotoku, N., Ishida, R., Matsumoto, H., Arai, M., Toda, K., **Setiawan, A.**, ... & Kobayashi, M. (2017). Biakamides A–D, unique polyketides from a marine sponge, act as selective growth inhibitors of tumor cells adapted to nutrient starvation. *The Journal of Organic Chemistry*, 82(3), 1705–1718.

Lim, C. W., Cha, Y. J., & Kim, J. S. (2005). New cyclic peroxides from a sponge, *Plakortis* sp. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 8(1), 6–9.

Patil AD, Freyer AJ, Carte B, Johnson RK, Lahouratate P (1996) Plakortides, novel cyclic peroxides from the sponge *Plakortis halichondrioides*: activators of cardiac SR-Ca<sup>2+</sup>-pumping ATPase. *Journal of natural products*, 59, 219–223.

Takada N, Watanabe M, Yamada A, Suenaga K, Yamada K, Ueda K, Uemura D (2001) Isolation and structures of haterumadioxins A and B, cytotoxic endoperoxides from the Okinawan sponge *Plakortis lita*. *Journal of natural products*, 64, 356–359.

Varoglu M, Peters BM, Crews P (1995) The structures and cytotoxic properties of polyketide peroxides from a *Plakortis* sponge. *Journal of natural products*, 58:27–36.

## BAB 5. POLIPEPTIDA

Senyawa polipeptida merupakan senyawa bioaktif alami yang dapat ditemukan pada berbagai jenis biota laut. Senyawa peptida yang berasal dari sumber biota laut memiliki potensi nutraceutical yang tinggi dan nilai obat yang menarik perhatian industri farmasi. Melalui berbagai kajian ilmiah terbukti dapat digunakan dalam pengobatan atau pencegahan berbagai penyakit. Hasil kajian berbagai senyawa peptida laut baik pada tahap praklinis dan klinis, kontribusi senyawa tersebut terhadap farmakope masa depan nampak sangat menjanjikan terkait terapi baru untuk pengobatan dan pencegahan berbagai penyakit.

Untuk mendapatkan senyawa bioaktif peptida laut perlu dilakukan ekstraksi pada sumber biota laut sebagai tahap awal. Ekstrak yang dihasilkan ini disaring untuk bioaktivitas tertentu, fraksinasi menggunakan prosedur fraksinasi bioassay-dipandu, dan akhirnya dimurnikan untuk menghasilkan peptida bioaktif tunggal. Secara umum, pelarut organik seperti metanol atau etil asetat biasanya digunakan pada langkah pertama ekstraksi senyawa peptida siklik. Selanjutnya, ekstrak metanol atau etil asetat di pekatkan menggunakan evaporator pada tekanan rendah. Hasil ekstrak kasar kemudian dipartisi menggunakan pelarut air dan pelarut organik seperti normal heksan atau diklorometan. Hasil partisi selanjutnya difraksinasi menggunakan teknik kolom kromatografi menggunakan fase diam silika gel atau kromatografi eksklusi. Untuk tahap akhir senyawa peptida dimurnikan menggunakan kromatografi kinerja tinggi dengan fase terbalik C<sub>18</sub>. Untuk senyawa peptida linier, prosedur yang digunakan umumnya kromatografi eksklusi, kromatografi fase terbalik dan kromatografi penukar ion. Pada langkah awal ekstrak cair dilewatkan pada kolom kromatografi eksklusi. Selanjutnya fraksi target yang mengandung senyawa peptida dilewatkan pada kromatografi penukar ion. Pada tahap pemurnian dapat dilakukan menggunakan kromatografi fase

terbalik dan biasanya dibutuhkan rekromatografi untuk memisahkan senyawa pengotor yang ada.

Pada bab 5 ini kita akan membahas beberapa senyawa polipeptida. Pembahasan fokus pada tiga senyawa peptida yang diperoleh dari spons perairan Indonesia. Ketiga senyawa peptida yang akan dibahas memiliki struktur dan bioaktivitas berbeda.

## 5.1 Barangamide

**Sumber:** Barangamide A telah diisolasi dari spons *Theonella swinhoei*, dikumpulkan di Pulau Baranglombo, perairan sparemonde, Indonesia, dan struktur yang dijelaskan oleh interpretasi data khusus dan penerapan metode Marfey. Barangamide A adalah siklik undecapeptide yang memiliki tiga asam amino metilasi N, tiga  $\beta$ -alanin dan urutan asam amino yang sama dengan bagian cincin dari theonellapeptolide IId yang diketahui diisolasi juga dalam pekerjaan saat ini. *Theonella peptolides* telah dilaporkan memiliki sitotoksisitas sedang, sedangkan barangamide A tidak aktif pada konsentrasi yang sama.

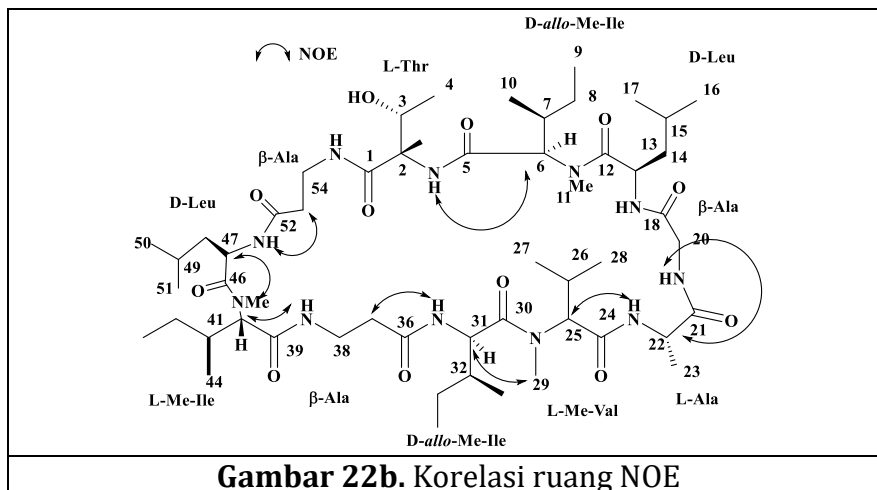
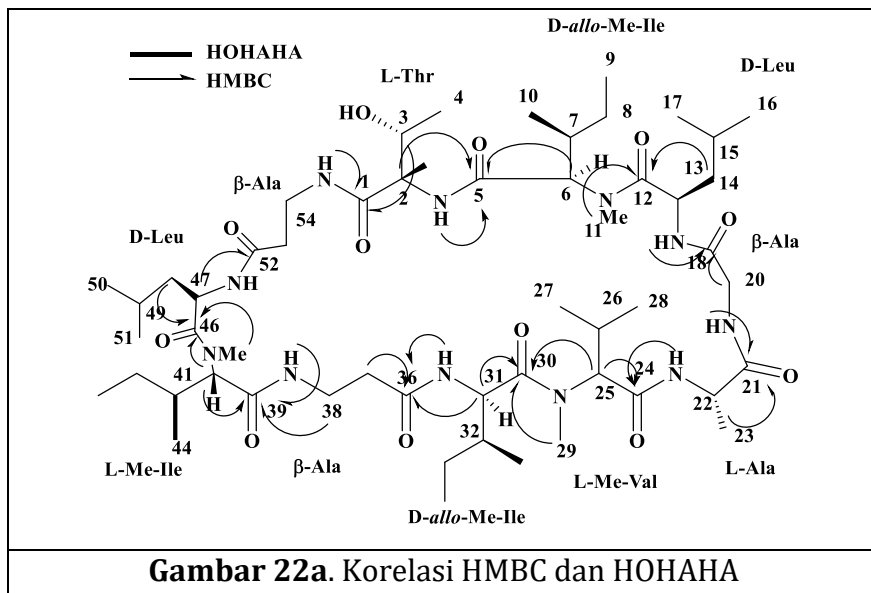
Dalam pencarian berkelanjutan kami untuk senyawa bioaktif dari sumber laut, kami baru-baru ini menyelidiki konstituen kimia dari spons Indonesia *Theonella swinhoei* dan mengisolasi tiga peptida, satu peptida siklik baru bernama barangamide A [49], dan dua depsipeptides yang diketahui, theonellapeptolides Id [50] dan IId [51]. Dalam bab ini akan menjelaskan isolasi dan penjelasan struktur 49.

Spons (600 g berat kering) dikumpulkan di Pulau Baranglombo, Indonesia oleh SCUBA dan dikeringkan di bawah sinar matahari sebelum diangkut ke Okinawa. Itu diekstraksi berturut-turut dengan heptane, etil asetat, aseton, dan metanol. Residu (14,6 g) dari ekstrak aseton, yang menunjukkan sitotoksisitas pada 10  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , dipisahkan oleh kromatografi kolom pada gel silika ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ ) diikuti oleh ODS ( $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ ). Fraksi-fraksi yang disebut-sebut dengan MeOH digabungkan (3,22 g) dan selanjutnya dipisahkan oleh HPLC

pada ODS menggunakan MeCN-MeOH-H<sub>2</sub>O (16: 3: 1) kemudian MeOH-H<sub>2</sub>O (88: 12) sebagai eluents untuk mendapatkan 11 mg senyawa **49** sebagai padatan kaca, bersama dengan theonellapeptolides Id [50] dan IId [51] sebagai komponen utama.

**Struktur:** Formula molekul senyawa **49** ditetapkan C<sub>54</sub>H<sub>97</sub>N<sub>11</sub>O<sub>12</sub> dengan nilai derajat ketidak jenuhan 12 menggunakan daya resolusi tinggi FABMS (MH<sup>+</sup> m/z 1092.7374 Δ-2.2 mmu). Karakteristik peptide senyawa **50** terdeteksi dengan adanya informasi serapan <sup>1</sup>H (resonansi delapan NH pada δ<sub>H</sub> 6.2-9.2, resonansi tiga NMe pada δ<sub>H</sub> 2.62, 2.98, 3.30) dan data serapan <sup>13</sup>C NMR (resonansi sebelas C=O pada daerah serapan δ<sub>C</sub> 169-176 ppm). Kerangka poliketida pusat II dapat disiapkan melalui reaksi kopling CoreySeebach 30 antara 1,3-dithiane III dan alkil halida yang mengandung nitrogen, dan pengenalan berturut-turut berikutnya dari amida tak jenuh dan moieties klorometilena diharapkan untuk memberikan prekursor umum I biakamides. Amilasi akhir menggunakan asam karboksilat yang sesuai akan mampu 1-4

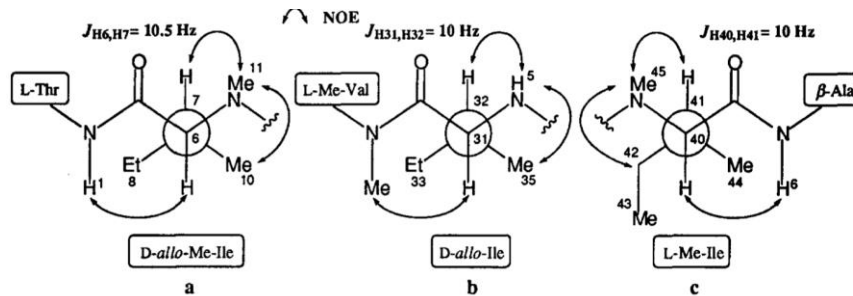
Sebelas residu asam amino seperti yang diungkapkan oleh data NMR adalah ~ Ala (x3), Ala, fie, Me-Ile (x2), Leu (x2), Thr, dan Me-Val. Ile dan salah satu Me-Ile berada dalam bentuk allo seperti yang ditunjukkan oleh perbandingan <sup>1</sup>H NMR dari hidrolisis asam (6N HCl, 110 °C (2, 24 jam) dari **49** dengan sampel otentik. Urutan asam amino ditentukan menggabungkan data analisis korelasi HMBC dan NOE untuk menyelesaikan struktur planar untuk **49** Gambar 22.



Penerapan metode Marfey memungkinkan dilakukan untuk menentukan chirality residu sebagai L-Ala, D-allo-Ile, L-Me-Ile, D-allo-Me-Ile, D-allo-Me-Ile, D-Leu (x2), L-Thr, dan L-Me-Val.

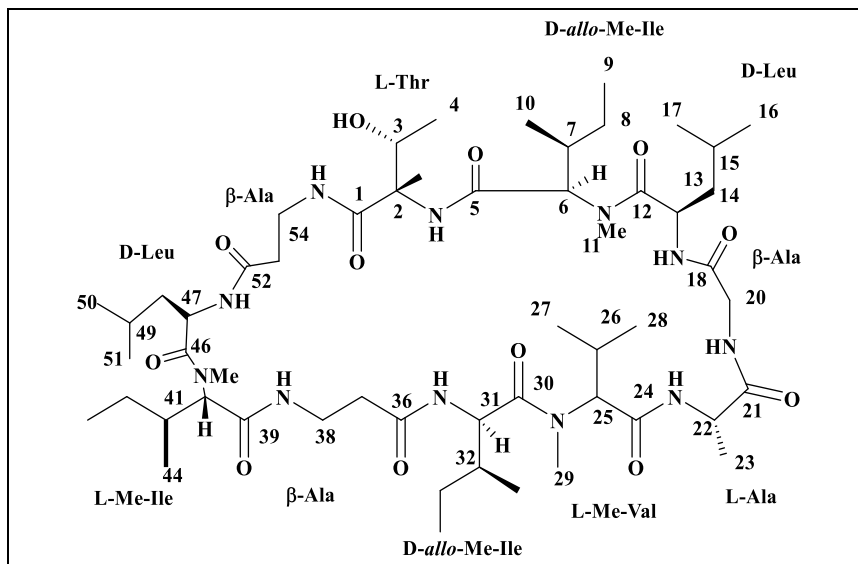
Posisi dua unit Me-Ile isomer (C5-11, C39-45) ditugaskan sebagai berikut. Sampel otentik isoleusin dan *allo*-isoleucine

menunjukkan konstanta kopling vicinal kecil (4 Hz) untuk H-2 dan H-3, menunjukkan tidak ada penghalang rotasi di sekitar sumbu C2-C3. Sebaliknya, **50** menunjukkan nilai besar untuk konstanta kopling yang sesuai ( $J_{H_6, H_7} = 10,5$  Hz dan  $J_{H_{40}, H_{41}} = 10$  Hz) di unit Me-Ile, menunjukkan rotasi terbatas dan hubungan anti proton ini Gambar 23. Perbedaan ini diperkuat oleh tidak ada NOE antara proton ini (H-6 dan H-7; H-40 dan H-41).



**Gambar 23** Korelasi NOE dan Penentuan 3 unit isoleucine





**Gambar 24. Struktur molekul barangamide A [49]**

**Biaktivitas** Urutan asam amino dari Barangamide A [49] diidentifikasi bersamaan dengan siklik pada senyawa 51. Perbedaan antara senyawa 50 dan 51 nampak dari perbedaan pada bentuk siklisasi dengan residu threonine. Dalam 50, perbedaan struktur nampak gugus hidroksil di dalam pembentukan kerangka lakton, dan gugus amino digunakan untuk memperpanjang rantai samping. Hal yang menarik perlu diingat bahwa perbedaan antara 50 dan 51 nampak pada perbedaan sifat aktivitas biologis yang signifikan. Pada uji awal, nampak senyawa 51 tidak memperlihatkan sifat toksisitas, sementara theonellapeptolide Ia-Ie, theonellapeptolides Ia-Ie telah dilaporkan bersifat toksik terhadap L1210 ( $IC_{50}$  1.3-2.4  $\sim \mu\text{g/mL}$ ) (Kobayashi et al., 1991). Sebagai catatan Untuk kajian kimia dan biologi masih sangat mungkin untuk dikembangkan dari senyawa ini

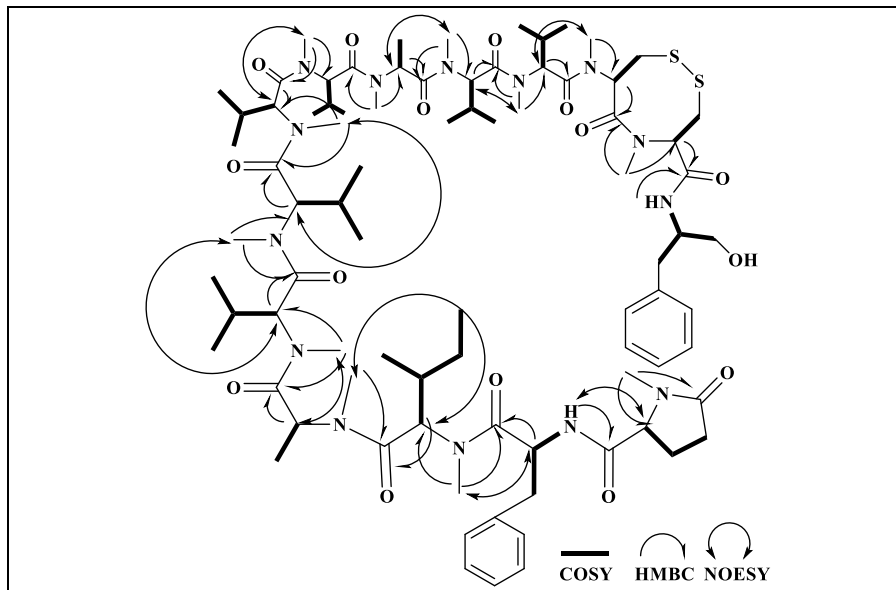
## 5.2 Kendariamide

**Riwayat** Sebuah modulator baru resistensi multidrug (MDR) dalam sel tumor, Kendarimide A [52], diisolasi dari spons laut Indonesia *Haliclona* sp. Sampel diperoleh dari perairan Kendari. Senyawa 52 membalikkan MDR dalam sel KB-C2 yang dimediasi oleh P-glikoprotein (P-gp) pada konsentrasi 6 mM, dan struktur kimia 52 dicirikan sebagai peptida linier yang terdiri dari asam N-metilpiroglutamat (pyroMeGlu), N- sisteinil-sistein beranggota delapan termetilasi (ox-[MeCys-MeCys]) bersama-sama dengan banyak residu asam amino N-metil. Urutan asam amino 52 ditentukan dengan analisis 2D NMR dan FAB MS. Konfigurasi absolut dari residu asam amino dalam 52 kecuali untuk bagian MeCys ditentukan sebagai bentuk-L masing-masing, berdasarkan interpretasi analisis HPLC turunan Marfey dari hidrolisat 52 dan metode sintesis untuk residu pyroMeGlu. (Aoki et al., 2004).

**Struktur:** Kerangka struktur dari kendariamide A (52) di tentukan berdasarkan analisis 1D dan 2D NMR. Secara bertahap data  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR di hubungkan dengan teknik H-H COSY, HMBC, NOESY seperti terlihat pada Gambar 24 : Untuk menentukan konfigurasi absolut dari urutan asam amino, 52 dihidrolisis oleh 6 N HCl pada 110 °C selama 20 jam. Turunan Marfey dari hidrolisis yang dihasilkan dianalisis oleh HPLC untuk mengungkapkan kehadiran masing-masing L-MeGlu, L-Phe, L-Melle, L-phenylalaninol, dan dua MeAla dan enam L-MeVal. L-PyroMeGlu diubah menjadi L-MeGlu di bawah kondisi hidrolisis ini.

Dengan demikian, metode Marfey berlaku untuk menentukan konfigurasi absolut fenilalaninol. Namun, N-methylcysteines yang ada sebagai bentuk disulfida delapan anggota (ox-[MeCys-MeCys]) tidak dapat dianalisis dengan metode Marfey karena dekomposisi dan racemization selama hidrolisis asam. Akibatnya, kami dapat menentukan struktur stereo absolut kendarimide A [52] kecuali untuk konfigurasi

absolut dari dua MeCys. Konfigurasi absolut dari dua residu N-methylcysteine sedang diselidiki dengan metode sintesis.



**Gambar 24. Struktur molekul Kendariamide [52]**

**Biaektivitas** ; Sel tumor, yang memperoleh resistensi obat terhadap beberapa obat antikanker memiliki mekanisme tindakan yang tidak terkait dan Struktur kimia, disebut resistensi multidrug (MDR) Sel. Dalam banyak kasus, mekanisme utama MDR adalah ekspresi berlebihan glikoprotein membran sebagai ATPdependent pompa, yang mengeluarkan obat antikanker pada tumor Sel.

P-glikoprotein (P-gp) yang dikodekan oleh gen MDR1, yang termasuk dalam keluarga super transporter kaset pengikat ATP (ABC), telah diamati di berbagai garis sel MDR dan terkait erat dengan resistensi obat dalam pengobatan klinis. Zat yang menghambat fungsi P-gp dan meningkatkan konsentrasi agen antitumor dalam sel MDR, diharapkan

memiliki potensi tinggi untuk mewujudkan kemoterapi kanker yang sukses.

Dalam perjalanan penyingkapan kami MDR-modulator dari organisme laut, kami mengisolasi agosterols 3 sebagai zat pembalikan ampuh untuk kedua P-gp dan multidrug resistensi terkait protein (MRP1) -dimediasi MDR dari spons laut *Spongia* sp. dan brianthein A4 sebagai zat membalikkan untuk P-gp-dimediasi MDR dari gorgonian *Briareum excavatum* Indonesia. Kami selanjutnya mengisolasi peptida bernama kendarimide A [52] yang menunjukkan aktivitas pembalikan ke MDR yang dimediasi P-gp, dari spons laut Indonesia. Berikut kami laporkan detail analisis struktur kendarimide A [52].

### 5.3 Stylissamide X

Oktapeptide siklik kaya prolin baru bernama stylissamide X (53) diisolasi dari spons perairan laut Indonesia. *Stylissa* sp. sebagai penghambat migrasi sel dari panduan uji penyembuhan luka. Struktur kimia stilissamida X [53] ditentukan berdasarkan analisis spektroskopi, dan struktur stereo asam amino disimpulkan dengan metode Marfey. Senyawa 53 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap migrasi sel HeLa dalam kisaran konsentrasi 0,1-10  $\mu\text{M}$  melalui uji penyembuhan luka dan uji ruang kemotaksis, sedangkan viabilitas sel dipertahankan lebih dari 75% hingga konsentrasi 10  $\mu\text{M}$  1.

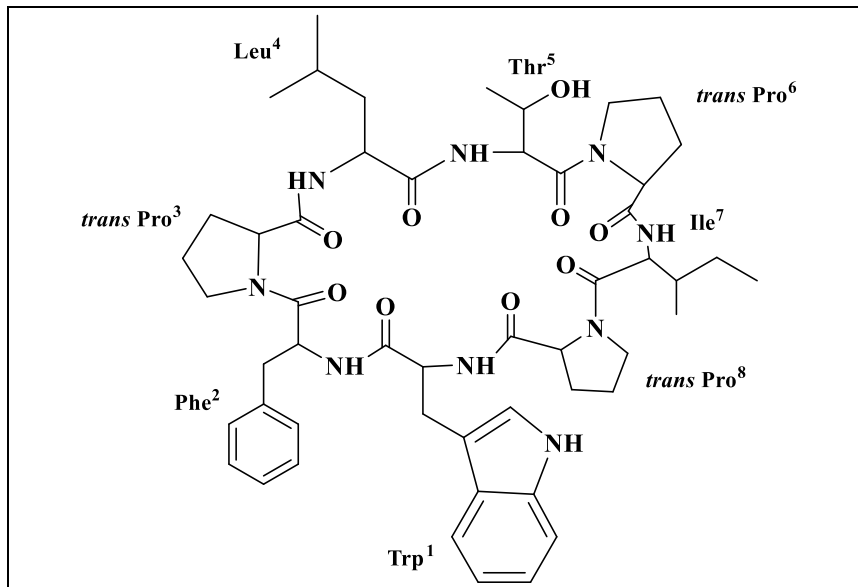
Kebaruan Stylissamide X [53] diperoleh sebagai padatan tidak berwarna. ESI-TOF MS dari 53 menunjukkan puncak ion pseudomolekuler pada  $m/z$  974  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Rumus molekul ditentukan sebagai  $\text{C}_{51}\text{H}_{69}\text{N}_9\text{O}_9$  menggunakan resolusi tinggi (HR-) ESI-TOF MS. Penyerapan IR pada 3490, 3320, dan 1670  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus hidroksil, gugus amino, dan gugus amida karbonil. Pengamatan sinyal pada 168-170 ppm dalam spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR dan sinyal downfield (7,5-10,8 ppm) dari spektrum  $^1\text{H}$  NMR menunjukkan struktur peptida 1. Untuk mengkonfirmasi komposisi asam amino 1, senyawa 1 diperlakukan dengan dabsyl chloride berikut hidrolisis asam.

Analisis HPLC dari asam amino yang mengungkapkan bahwa senyawa **53** mengandung tiga mol Pro, masing-masing satu mol Leu, Ile, Thr, Trp, dan Phe dalam strukturnya. Keberadaan delapan asam amino juga dikonfirmasi oleh analisis NMR termasuk percobaan TOCSY, HMQC, dan HMBC.

Konektivitas asam amino ini ditemukan dengan analisis HMBC dan ROESY. Korelasi ROESY antara Trp1-NH ( $\delta_H$  8,24) dan Pro8-Ha ( $\delta_H$  3,90); Phe2-Ha ( $\delta_H$  5,00) dan Pro3-Hd1 ( $\delta_H$  3,90), Pro3-Hd2 ( $\delta_H$  3,60); Pro3-Ha ( $\delta_H$  4,00) dan Leu4-NH ( $\delta_H$  8,70); Thr5-Ha ( $\delta_H$  4,90) dan Pro6-Hd1 ( $\delta_H$  3,70); Thr5-Hb ( $\delta_H$  4.10) dan Pro6-Hd2 ( $\delta_H$  3.57); Pro6-Ha ( $\delta_H$  4,40) dan Ile7-NH ( $\delta_H$  8,30); Ile7-Ha ( $\delta_H$  4.20) dan Pro8-Hd1 ( $\delta_H$  3.96), Pro8-Hd2 ( $\delta_H$  3.53) mengungkapkan adanya sekuens Phe2-Pro3-Leu4 dan Thr5-Pro6-Ile7-Pro8-Trp1.

Selain itu, korelasi HMBC antara Phe2-NH ( $\delta_H$  8.10) dan Trp1-CO ( $\delta_C$  170.1); Trp1-Ha ( $\delta_H$  3.68) dan Trp1-CO; Thr5-NH ( $\delta_H$  7,50) dan Leu4-CO ( $\delta_C$  170,1); Leu4-Ha ( $\delta_H$  3.56) dan Leu4-CO membuktikan bahwa stylissamide X [**53**] memiliki struktur cyclo-(Trp-Phe-Pro-Leu-Thr- Pro-Ile-Pro). Stereostruktur asam amino dikonfirmasi oleh analisis HPLC dari asam amino yang diturunkan oleh 5-fluoro- 2,4-dinitrophenyl-L-alanine-amide (pereaksi Marfey). Kemudian hasil yang diperoleh di analisis dengan HPLC. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua asam amino merupakan asam L-amino. Selain itu, geometri keterkaitan peptidik pada residu proline ditemukan berdasarkan perbedaan pergeseran kimia  $^{13}C$  antara proline  $\beta$  dan  $\chi$  karbon ( $\Delta_{\delta\beta-\chi}$ ).

Perbedaan kecil (Pro<sup>3</sup>  $\Delta_{\delta\beta-\chi}$  = 5.0, Pro<sup>6</sup>  $\Delta_{\delta\beta-\chi}$  = 4.4, Pro<sup>8</sup>  $\Delta_{\delta\beta-\chi}$  = 3.6) menunjukkan bahwa semua ikatan peptida prolin adalah trans geometri. Korelasi ROESY antara Phe<sup>2</sup>-H $\alpha$  dan Pro<sup>3</sup>-H $\delta_1$ , Pro<sup>3</sup>-H $\delta_2$ ; Ile<sup>7</sup>-H $\alpha$  dan Pro<sup>8</sup>-H $\delta_1$ , Pro<sup>8</sup>-H $\delta_2$ ; Thr<sup>5</sup>-H $\alpha$  dan Pro<sup>6</sup>-H $\delta_1$ , Pro<sup>6</sup>-H $\delta_2$  juga mendukung geometri trans dari hubungan peptidik prolin ini. Secara keseluruhan, struktur kasar stylissamide X (**53**) dijelaskan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 25.



**Gambar 25. Struktur Stylissamide X [53]**

Stylissamide X [53] (0,5 mg) diperlakukan dengan 2 mL HCl 1,2 N aq dan dipanaskan pada 110 °C selama 12 jam. Campuran reaksi dikeringkan di bawah tekanan tereduksi untuk mendapatkan asam amino mentah. Asam amino kasar dari stylissamide X [53] dan asam amino asli dilarutkan dalam 40 mL 50 mM natrium bikarbonat (pH 8.1) dalam tabung gelas. Kemudian, 80 mL larutan 4-dimetilaminoazobenzena-4-sulfonil klorida (DABS-Cl) yang baru disiapkan (4 mM dalam asetonitril) ditambahkan ke setiap sampel. Sampel ditutup dengan tutup dan Parafilm. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu 70 °C selama 10 menit. Setelah dabsilasi, sampel dianalisis dengan HPLC fase terbalik pada kondisi berikut; Cosmosil 5C18 AR, (4,6 mm id x 250 mm), landaian linier 50 menit dari asetonitril-25 mM buffer natrium asetat (pH 6,5) = 3:7 hingga 1:1, 30 °C, 1 mL/menit, dan deteksi pada 436nm. Thr, Pro, Ile, Leu, Trp, dan Phe yang didabsilasi otentik dielusi dengan waktu retensi masing-masing 24,8, 30,8, 37,2, 38,4, 40,4, dan 42,4 menit.

Ekstrak kasar asam amino dari stylissamide X [53] dan asam amino L- dan D-asli dilarutkan dalam 100 µL natrium

bikarbonat 0,5 M dalam tabung kaca tutup ulir 3 mL, masing-masing. Kemudian, 100  $\mu$ L 5-fluoro-2,4-dinitrofenil-L-alanin amida (L-FDAA, reagen Marfey, 10 mg/mL dalam aseton) ditambahkan ke setiap sampel. Sampel ditutup dengan tutup dan diinkubasi pada 70 °C selama 60 menit. Setelah penambahan 20  $\mu$ L 1 N HCl aq, campuran reaksi diencerkan dengan metanol sampai volume yang sesuai (pengenceran 10–15 kali lipat). Sebuah alikuot dari turunan L-FDAA dianalisis dengan HPLC di bawah kondisi berikut; Cosmosil pNAP, (4,6 mm id x 250 mm), gradien linier 80 menit dari asetonitril–H<sub>2</sub>O yang mengandung 0,1% TFA = 1:9 hingga 1:1, 1,5 mL/menit, dan deteksi pada 340 nm. L-Thr, D-Thr, L-Pro, D-Pro, L-Ile, D-Ile, L-Leu, D-Leu, L-Phe, D-Phe, L-Trp, dan D-Trp asli yang diturunkan secara otentik dielusi dengan waktu retensi masing masing 39,6, 43,2, 47,6, 51,2, 62,8, 68,8, 63,6, 68,8, 66,4, 71,6, 64,8, dan 68,4 menit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aoki, S., Cao, L., Matsui, K., Rachmat, R., Akiyama, S. I., & Kobayashi, M. (2004). Kendarimide A, a novel peptide reversing P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in tumor cells, from a marine sponge of *Haliclona* sp. *Tetrahedron*, 60(33), 7053-7059.
- Bernaldez, J., Román-González, S. A., Martínez, O., Jiménez, S., Vivas, O., Arenas, I., ... & Licea, A. (2013). A *Conus regularis* conotoxin with a novel eight-cysteine framework inhibits CaV2.2 channels and displays an anti-nociceptive activity. *Marine drugs*, 11(4), 1188-1202.
- Du, F.Y.; Li, X.M.; Zhang, P.; Li, C.S.; Wang, B.G., 2014. Cyclodepsipeptides and other O-containing heterocyclic metabolites from *Beauveria felina* EN-135, a marine-derived entomopathogenic fungus. *Marine drugs*, 12, 2816–2826.
- Grieco, P. A., & Bahsas, A. (1987). Immonium ion based synthetic methodology: a novel method for the N-methylation of dipeptides and amino acid derivatives via retro aza Diels-Alder reactions. *The journal of organic chemistry*, 52(26), 5746-5749.
- Kitagawa, I., Kobayashi, M., Lee, N. K., Shibuya, H., Kawata, Y., & Sakiyama, F. (1986). Structure Of Theonellapeptolide Id, A New Bioactive Peptolide From An Okikawan Marine Sponge, *Theonella* Sp.(Theonelliae). *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 34(6), 2664-2667.



- Kobayashi, M., Kanzaki, K., Katayama, S., Ohashi, K., Okada, H., Ikegami, S., & Kitagawa, I. (1994). Marine natural products. XXXIII. Theonellapeptolide IId, a new tridecapeptide lactone from the Okinawan marine sponge *Theonella swinhoei*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 42(7), 1410-1415.
- Kobayashi, M., Lee, N. K., Shibuya, H., Momose, T., & Kitagawa, I. (1991). Marine natural products. XXVI. Biologically active tridecapeptide lactones from the Okinawan marine sponge *Theonella swinhoei* (Theonellidae) (2). Structures of theonellapeptolides Ia, Ib, Ic, and Ie. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 39(5), 1177-1184.
- Lebbe, E. K., Peigneur, S., Maiti, M., Devi, P., Ravichandran, S., Lescrinier, E., ... & Tytgat, J. (2014). Structure-function elucidation of a new  $\alpha$ -conotoxin, Lo1a, from *Conus longurionis*. *Journal of biological chemistry*, 289(14), 9573-9583.
- Li, S., Dumdei, E. J., Blunt, J. W., Munro, M. H., Robinson, W. T., & Pannell, L. K. (1998). Theonellapeptolide IIIe, a new cyclic peptolide from the New Zealand deep water sponge, *Lamellomorpha strongylata*. *Journal of natural products*, 61(6), 724-728.
- Marfey, P. (1984). Determination of D-amino acids. II. Use of a bifunctional reagent, 1, 5-difluoro-2, 4-dinitrobenzene. *Carlsberg research communications*, 49(6), 591-596.
- Mayer, A. M., Glaser, K. B., Cuevas, C., Jacobs, R. S., Kem, W., Little, R. D., ... & Shuster, D. E. (2010). The odyssey of

marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective.  
Trends in pharmacological sciences, 31(6), 255-265.

Nakamura, H., Kobayashi, J. I., Nakamura, Y., Ohizumi, Y., Kondo, T., & Hirata, Y. (1986). Theonellamine B, a novel peptidal Na, K-atpase inhibitor, from an okinawam marine sponge of the genus Theonella. Tetrahedron letters, 27(36), 4319-4322.

Yurchenko, A. N., Smetanina, O. F., Kalinovsky, A. I., Pushilin, M. A., Glazunov, V. P., Khudyakova, Y. V., ... & Afiyatullof, S. S. (2014). Oxirapentyns F-K from the marine-sediment-derived fungus *Isaria felina* KMM 4639. Journal of natural products, 77(6), 1321-1328.

## PENUTUP

Kajian struktur senyawa bioaktif yang bersumber dari sponge tidak diragukan lagi menyatakan kekayaan keanekaragaman biota laut perairan Indonesia juga mencerminkan kekayaan keanekaragaman struktur senyawa dengan bioaktivitas beragam. Sejalan dengan kemajuan di bidang bioteknologi saat ini, sangat dimungkinkan untuk mengembangkan kajian potensi senyawa bioaktif lebih intensif melalui kerjasama penelitian pada multi disiplin ilmu.

Terobosan terbaru dalam Bioteknologi telah memungkinkan pelaksanaan program ini dengan cara yang berkelanjutan secara ekologis. Program ini dapat dikembangkan di Indonesia melalui kerjasama yang erat antara lembaga penelitian, perusahaan farmasi, dan lembaga pemerintah pengendali keanekaragaman hayati yang mewakili negara sumber. Dengan kesepakatan pembagian manfaat yang dinegosiasikan dengan baik, Indonesia dapat memperoleh banyak manfaat dari penggunaan sumber daya genetik Indonesia, termasuk konservasi keanekaragaman hayati, ekowisata, infrastruktur ilmiah, transfer teknologi dan pendidikan, dan royalti moneter.

Untuk memberikan dampak ekonomi yang signifikan, kami menyarankan agar konsep pembagian manfaat ini harus dimulai dilakukan dalam skala kecil, dalam hal ini daerah-daerah di mana komunitas `pemilik` tinggal. Dalam hal ini dapat dijadikan model di tingkat nasional, yang selanjutnya dapat diterapkan di wilayah lain di Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati laut yang tinggi. Jika konsep ini dikembangkan dalam skala yang lebih besar, kami yakin dapat memberikan kontribusi yang signifikan bagi keberlanjutan perekonomian nasional.

## GLOSARI

**Antibiotik** segolongan senyawa baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri aktivitas farmakologi

**DEPT** Distortionless enhancement by polarization transfer DEPT adalah metode NMR yang digunakan untuk menentukan keberadaan atom karbon primer, sekunder dan tersier.

**Mikroorganisme** atau mikroba adalah organisme yang berukuran sangat kecil sehingga untuk mengamatnya diperlukan alat bantuan. Mikroorganisme disebut juga organisme mikroskopik

**Metabolit primer** senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat esensial bagi proses metabolisme sel tersebut. Senyawa ini dikelompokkan menjadi 4 kelompok makromolekul yaitu karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat

**Metabolit sekunder** senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Senyawa bioaktif

**Spons** anggota filum Porifera (/ pə'rifərə /; yang berarti 'pembawa pori'), adalah organisme multiseluler yang memiliki tubuh yang penuh dengan pori-pori dan saluran yang memungkinkan air bersirkulasi melalui mereka.

**Tunikata** adalah hewan invertebrata laut, anggota subfilum Tunicata / tju:nɪ'keitə /. Ini adalah bagian dari Chordata, filum yang mencakup semua hewan dengan tali saraf punggung dan notochords (termasuk vertebrata).

**NMR** atau Resonansi magnetik nuklir adalah fenomena fisik di mana inti dalam medan magnet konstan yang kuat terganggu oleh medan magnet berosilasi lemah (di medan dekat) dan merespon dengan menghasilkan sinyal elektromagnetik dengan karakteristik frekuensi medan magnet di nukleus.

**$^1\text{H}$  NMR** Resonansi magnetik nuklir proton (proton NMR, hidrogen-1 NMR, atau  $^1\text{H}$  NMR) adalah penerapan resonansi magnetik nuklir dalam spektroskopi NMR sehubungan dengan inti hidrogen-1 dalam molekul suatu zat, untuk menentukan struktur molekulnya.

**$^{13}\text{C}$  NMR** spectroscopy or sometimes simply referred to as carbon NMR) is the application of nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy to carbon. It is analogous to proton NMR.

**Pergeseran kimia** adalah frekuensi resonansi inti relatif terhadap standar dalam medan magnet. Seringkali posisi dan jumlah pergeseran kimia merupakan diagnostik dari struktur molekul.

**2D NMR** Spektroskopi resonansi magnetik nuklir dua dimensi adalah seperangkat metode spektroskopi resonansi magnetik nuklir (NMR) yang memberikan data yang diplot dalam ruang yang ditentukan oleh dua sumbu frekuensi, bukan hanya satu frekuensi.

**NOE** (Efek Overhauser nuklir) adalah transfer polarisasi spin nuklir dari satu populasi inti spin-aktif (misalnya  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  dll) ke yang lain melalui relaksasi silang.

**NOESY** Spektroskopi Efek Overhauser Nuklir adalah metode spektroskopi 2D NMR yang digunakan untuk mengidentifikasi putaran nuklir yang mengalami relaksasi silang dan untuk mengukur tingkat relaksasi silangnya.

**TOCSY** – (Total Correlation Spectroscopy). Eksperimen dimana pergeseran kimia suatu inti A dikorelasikan dengan pergeseran

kimia semua inti sejenis yang berada dalam sistem spin atom A. Jadi misalnya dalam protein NMR, eksperimen ini memungkinkan untuk mendapatkan korelasi antara semua proton suatu Asam amino.

**HOHAHA** (Homonuclear Hartmann Hahn) merupakan sinonim dari TOCSY

**Senyawa bioaktif** senyawa esensial dan non esensial (misalnya vitamin atau polifenol) yang terdapat di alam, menjadi bagian dari rantai makanan, dan memiliki pengaruh terhadap kesehatan tubuh manusia.

**Konfigurasi relatif** adalah konfigurasi yang membandingkan penataan atom-atom dalam ruang tiga dimensi dalam suatu senyawa dengan yang lainnya

**Konfigurasi mutlak** adalah konfigurasi yang penataan atom-atom dalam tiga dimensi dengan orientasi yang sudah pasti. Konfigurasi mutlak menggunakan arah orientasi *R* (*rectus*) dan *S* (*sinister*)

**IC50** Ini menunjukkan berapa banyak obat yang dibutuhkan untuk menghambat proses biologis hingga setengahnya, sehingga memberikan ukuran potensi obat antagonis dalam penelitian farmakologis

**Penyakit Alzheimer** adalah penyebab paling umum dari demensia. Selama sakit berlangsung, zat kimia dan struktur otak berubah sehingga menyebabkan kematian sel-sel otak. Istilah demensia menggambarkan serangkaian **gejala** yang mencakup kehilangan memori, perubahan suasana hati, masalah dengan komunikasi dan penalaran.

**Penyakit Parkinson** terjadi ketika sel-sel saraf di otak yang disebut substantia nigra mengalami kerusakan atau kematian.

**Protein kinase** (MAPK) adalah kinase yang secara selektif memodifikasi protein lain dengan menambahkan fosfat secara kovalen ke dalamnya (fosforilasi) sebagai lawan dari kinase yang memodifikasi lipid, karbohidrat, atau molekul lain. Fosforilasi biasanya menghasilkan perubahan fungsional protein target (substrat) dengan mengubah aktivitas enzim, lokasi seluler, atau asosiasi dengan protein lain.

**Mitogen** adalah protein bioaktif kecil atau peptida yang menginduksi sel untuk memulai pembelahan sel, atau meningkatkan laju pembelahan (mitosis). Mitogenesis adalah induksi (pemicu) mitosis, biasanya melalui mitogen.

**Neuroprotiksi** didefinisikan sebagai kemampuan terapi untuk mencegah kematian sel saraf dengan mengintervensi dan menghambat kaskade patogenetik yang mengakibatkan disfungsi sel dan akhirnya kematian.

**Asam Indole-3-asetat** (IAA) adalah auksin alami utama yang terlibat dalam pengaturan berbagai proses pertumbuhan dan perkembangan seperti pembelahan, pemanjangan, dan penentuan polaritas dalam sel tumbuhan yang sedang tumbuh. neuron hippocampal HT22 tikus

**Spesies oksigen reaktif (ROS)** adalah bahan kimia yang sangat reaktif yang terbentuk dari O<sub>2</sub>. Dalam konteks biologis, ROS adalah produk sampingan dari metabolisme normal oksigen. ROS memiliki peran dalam pensinyalan sel dan homeostasis. ROS bersifat intrinsik untuk fungsi seluler, dan hadir pada tingkat yang rendah dan stasioner dalam sel normal.

**HRESIMS** adalah teknik dalam MS. Ini memberikan massa akurat senyawa target. Sebaliknya, LC-MS adalah teknik hyphenated (teknik pemisahan cum deteksi oleh MS) di mana sampel pertama dipisahkan oleh kolom kromatografi cair dan kemudian berbagai bagian dipindahkan ke MS untuk identifikasi dan deteksi.

**MALDI-TOF** adalah ionisasi lunak yang melibatkan laser yang menyerang matriks molekul kecil untuk membuat molekul analit menjadi fase gas tanpa memecah atau menguraikannya. MALDI cocok untuk menganalisis biomolekul seperti peptida, lipid, sakarida, atau makromolekul organik lainnya.

**MIC** adalah konsentrasi **minimum** sebagai antimikroba yang dapat menghambat mikroorganisme sesudah 18 sampai dengan 24 jam setelah masa inkubasi.



## Tentang Penulis



Andi Setiawan adalah staf pengajar Jurusan kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung sejak tahun 1988 hingga saat ini. Penulis mendapatkan gelar Drs di Universitas Indonesia pada tahun 1986. Pada tahun 1994, Penulis mendapat kesempatan untuk mengambil gelar MSc di *University of the Ryukyus* melalui program beasiswa Bapenas pada tahun 1994 -1996 di bidang *Marine Science*. Pada tahun 1998, setelah mengabdikan kembali ke Unila selama satu tahun, kemudian mendapatkan kesempatan kembali untuk menyelesaikan Doctor of Philosophy melalui program DUE Project Universitas Lampung di *Graduate School of Pharmaceutical Science*, Osaka University, Jepang (1998-2001).

Sejak menjadi mahasiswa doctoral di Osaka University, penulis menjadi co scientist dalam program penelitian senyawa bahan alam laut dengan Osaka University bersama dengan Prof Motomasa Kobayashi (1997-2001). Pada tahun 2003 – 2019 melakukan penelitian senyawa bioaktif dari biota laut khususnya spons. Sumber spons diperoleh dari perairan Indonesia meliputi Lampung, Bitung, Mentawai, Sabang, Ujung Kulon, Biak, Bali dll. Penelitian dilakukan melalui kerjasama dengan Osaka University dan University of the Ryukyus Okinawa.

Hingga saat ini penulis masih aktif melakukan pengembangan penelitian yang didanai oleh Kemendikbud DIKTI terkait senyawa bahan aktif yang bersumber dari mikroorganisme yang berasosiasi dengan spons.



John Hendri adalah staf pengajar Jurusan kimia Falkultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unversitas Lampung sejak tahun 1987 hingga saat ini. Penulis mendapatkan gelar Drs di Universitas Andalas pada tahun 1985. Pada tahun 1994, Penulis mendapat kesempatan untuk mengambil gelar MS di Institut Teknologi Bandung melalui program beasiswa Kemendikbud DIKTI pada tahun 1986 -1989 di bidang Kimia. Pada tahun 1987 menjadi staf pengajar di Universitas Lampung. Pada tahun 1988 melanjutkan studi melalui program DUE Project Universitas Lampung di Department of Chemistry dalam bidang Polymer Science di Faculty of Engineering Gunma University, Jepang dan menyelesaikan studi Phylosophy Doctoral pada tahun 2001.

Sejak mulai aktif sebagai staf pengajar Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, penulis aktif dalam kegiatan riset, organisasi, dan reviewer berbagai program di DIKTI dan Ristek. Pada tahun 2001-2010, penulis diberi amanah sebagai Ketua Lembaga Penelitian, Universitas Lampung, Wakil Rektor Bidang Perencanaan pada tahun 2014-2015, Sekretaris Direktorat Sumber Daya Kemenristek dan dikti tahun 2015-2019, Pelaksana Tugas Kopertis wilayah X tahun 2016, Pelaksana Tugas Rektor di Universitas Tidar 2017, dan Universitas Gorontalo 2019.