UNIVERSITAS
GADJAH MADA
ISOLATION AND IDENTIFICATION OF TOXIC COMPOUNDS AGAINTS ARTEMIA SALINA FROM THE SPONGE XESTOSPONGIA
TESTUDINARIA COLLECTED IN GILI KETAPANG, PROBOLINGGO
Muhammad Arya Pradipta, Respati Tri Swasono S.Si, M.Phil. Ph.D, Associate Professor Keiichi Konoki
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF TOXIC COMPOUNDS AGAINTS *ARTEMIA SALINA* FROM THE SPONGE *XESTOSPONGIA TESTUDINARIA* COLLECTED IN GILI KETAPANG, PROBOLINGGO

Muhammad Arya Pradipta
22/497726/PA/21446

ABSTRACT

The marine sponge *Xestospongia testudinaria* from Gili Ketapang, Probolinggo, East Java, a reef population not previously screened, was examined for toxic constituents by bioassay-guided fractionation. Tissue was macerated in dichloromethane–methanol (1:1) and the dichloromethane-soluble material partitioned against ethyl acetate and water. Toxicity was tracked at each stage by the Brine Shrimp Lethality Test against *Artemia salina*, with median lethal concentrations from probit regression. The active crude ethyl acetate fraction was purified by silica gel column chromatography, ODS Sep-Pak C_{18} chromatography and semi-preparative reversed-phase HPLC, and the purified peak Fr9 was characterised by LC-HRMS, ^{1}H-NMR and COSY.

Toxicity concentrated at every step, from an LC_{50} of 230.62 ppm in the crude ethyl acetate fraction to 30.45 ppm in the ODS11 fraction and 22.34 ppm in Fr9, placing Fr9 in the strongly toxic band. The ^{1}H-NMR spectrum showed no aromatic resonance between 6.5 and 8.5 ppm, excluding quinones and aromatic alkaloids, and carried the signature of a long-chain carboxylic acid: α-CH_2–COOH near 2.3 ppm, allylic CH_2 near 2.0 ppm, a chain methylene envelope near 1.25 ppm and a terminal CH_3 near 0.88 ppm, with a weak resonance near 4.6 ppm assignable to O–CH or =CH_2. COSY resolved a continuous methylene relay from the terminal methyl through the chain and an α-CH_2 to β-CH_2 coupling, confirming a fatty acid backbone. Sample-unique ions at m/z 369.0456 and 373.0601 carry a mass defect no carbon, hydrogen and oxygen composition can reproduce, and match the sodium adduct of $C_{18}H_{19}BrO_2$ and the ^{81}Br isotopologue of the sodium adduct of $C_{18}H_{21}BrO_2$. The toxic constituent is therefore assigned at class level as a brominated polyunsaturated fatty acid, characteristic of the genus. Two candidate structures fit the accurate mass but neither is confirmed, since their bromine isotope envelopes overlap at m/z 371 and no negative-mode or MS/MS data were acquired. WST-8 screening at 10 ppm, well below Fr9's own LC_{50}, left N2a viability unchanged, which is inconclusive at that dose.

Keywords: *Artemia salina*, bioassay-guided fractionation, brominated fatty acid, Brine Shrimp Lethality Test, *Xestospongia testudinaria.*

UNIVERSITAS GADJAH MADA
ISOLATION AND IDENTIFICATION OF TOXIC COMPOUNDS AGAINTS ARTEMIA SALINA FROM THE SPONGE XESTOSPONGIA TESTUDINARIA COLLECTED IN GILI KETAPANG, PROBOLINGGO
Muhammad Arya Pradipta, Respati Tri Swasono S.Si, M.Phil. Ph.D, Associate Professor Keiichi Konoki
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BERACUN TERHADAP *ARTEMIA SALINA* DARI SPONS *XESTOSPONGIA TESTUDINARIA* YANG DIKUMPULKAN DI GILI KETAPANG, PROBLINGGO

Muhammad Arya Pradipta
22/497726/PA/21446

INTISARI

Spons laut *Xestospongia testudinaria* dari Gili Ketapang, Probolinggo, Jawa Timur, suatu populasi terumbu yang belum pernah diskrining, diteliti kandungan senyawa beracunnya melalui fraksinasi yang dipandu uji bioesai. Jaringan spons dimaserasi dalam diklorometana–metanol (1:1) dan bagian yang larut diklorometana dipartisi terhadap etil asetat dan air. Ketoksikan dipantau pada setiap tahap menggunakan Brine Shrimp Lethality Test terhadap larva *Artemia salina*, dengan konsentrasi letal median dari regresi probit. Fraksi etil asetat kasar yang aktif dimurnikan menggunakan kromatografi kolom gel silika, kromatografi ODS Sep-Pak C_{18} dan HPLC preparatif fase terbalik, dan puncak hasil pemurnian Fr9 dikarakterisasi dengan LC-HRMS, ^{1}H-NMR dan COSY.

Ketoksikan terkonsentrasi pada setiap tahap, dari LC_{50} sebesar 230,62 ppm pada fraksi etil asetat kasar menjadi 30,45 ppm pada fraksi ODS11 dan 22,34 ppm pada Fr9, sehingga Fr9 termasuk kategori sangat toksik. Spektrum ^{1}H-NMR tidak menunjukkan resonansi aromatik pada 6,5–8,5 ppm, sehingga kuinon dan alkaloid aromatik dapat dieliminasi, dan menampilkan pola khas asam karboksilat rantai panjang: α-CH_2–COOH pada ~2,3 ppm, CH_2 alilik pada ~2,0 ppm, selubung metilena rantai pada ~1,25 ppm dan CH_3 terminal pada ~0,88 ppm, disertai resonansi lemah pada ~4,6 ppm yang dapat berasal dari O–CH atau =CH_2. COSY memperlihatkan relai metilena berkesinambungan dari metil terminal sepanjang rantai serta kopling α-CH_2 dengan β-CH_2, sehingga kerangka asam lemak terkonfirmasi. Ion khas sampel pada m/z 369,0456 dan 373,0601 memiliki cacat massa yang tidak dapat dijelaskan oleh komposisi karbon, hidrogen dan oksigen saja, dan bersesuaian berturut-turut dengan aduk natrium $C_{18}H_{19}BrO_2$ dan isotopolog ^{81}Br dari aduk natrium $C_{18}H_{21}BrO_2$. Senyawa beracun tersebut ditetapkan pada tingkat kelas sebagai asam lemak tak jenuh ganda terbrominasi yang khas bagi genus ini. Dua kandidat struktur sesuai dengan massa akurat, namun keduanya belum terkonfirmasi karena selubung isotop bromin keduanya tumpang tindih pada m/z 371 dan data mode negatif maupun MS/MS belum diperoleh. Uji WST-8 pada 10 ppm, jauh di bawah LC_{50} Fr9 sendiri, tidak mengubah viabilitas sel N2a, sehingga hasilnya tidak konklusif pada dosis tersebut.

Kata kunci: *Artemia salina*, asam lemak terbrominasi, Brine Shrimp Lethality Test, fraksinasi dipandu uji bioesai, *Xestospongia testudinaria*.