

AKTIFITAS ANTI BAKTERI SPESIES *ASTERIAS FORBESII* TERHADAP BEBERAPA JENIS BAKTERI PATOGEN

Siti Juariah^{1,2}, Dwi Suryanto³ dan It Jamilah³

Diterima : 1 Mei 2014 Disetujui : 1 Juni 2014

ABSTRACT

To avoid contamination of bacteria pathogens natural and safe antibacterial agent is needed. The alternative sources of antibacterial compound is derived from sea star. In this extraction study of sea star activity showed that activity of the methanol from extract of starfish have the highest inhibition against for several bacterial pathogens compared to that of ethyl acetate and n-hexane extract with inhibition zone of 9.5 mm, 8.5 mm, 10.0 mm, 11.0 mm in *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. auroginosa* and *E. coli* respectively. It showed that of TLC preparatif triterpenoid was capable inhibition more in Gram negative bacteria (*Asterias forbesii*) has been carried out to obtain antibacterial compounds. To determine bioactive components in the extract of sea star chemical test has been conducted. Toxicity of secondary metabolites was determined using method of *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Assay of antibacterial activity of starfish extract was conducted against four pathogenic bacterial strains, two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), and two Gram-negative bacteria (*Pseudomonas auroginosa* and *Escherichia coli*). The result showed that the methanol extract contained alkaloid, terpenoids, saponins and flavonoids, while the extract of n-hexane and ethyl acetate only contain saponins and flavonoids. BSLT test showed that LC₅₀ of extract of n-hexane, ethyl acetate and methanol were 1412,54 ppm, 13182,57 ppm and 63,10 ppm respectively. Antibacterial (*E. coli* and *P. auroginosa*) bacteria compared with Gram positive (*S. aureus* and *B. subtilis*).

Keywords: *Asterias forbesii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas auroginosa*, *Escherichia coli*, antibacterial compound

PENDAHULUAN

Mikroba patogen merupakan salah satu penyebab penyakit pada manusia dan makhluk hidup lainnya. Banyak usaha yang telah dilakukan untuk mengantisipasi pengaruh mikroba patogen tersebut yaitu dengan menemukan senyawa kimia yang dapat menghambat

pertumbuhan dan membunuh bakteri. Untuk menghindari adanya cemaran dari bakteri patogen perlu adanya senyawa anti bakteri yang sifatnya alami serta dapat digunakan oleh manusia. Salah satu hasil perairan yang dapat dijadikan senyawa anti bakteri yang bersifat alami adalah bintang laut.

Bintang laut merupakan salah satu spesies dari kelas Asteroidea dan merupakan kelompok dari Echinodermata. Beberapa bioaktif antiviral, antitumor, antimikroba dan senyawa sitotoksik telah berhasil diekstrak dari berbagai jenis bintang laut. Senyawa bioaktif bintang laut sangat menarik untuk diteliti terutama berkaitan dengan sifat

-
- ¹) Mahasiswa Pascasarjana Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara
²) Staf Pengajar di Politeknik Tanjung Balai, Tanjung Balai, Sumatera Utara
³) Staf Pengajar di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan

karakteristik kimia maupun biokimianya serta pemanfaatannya untuk bidang pangan dan kesehatan.

De marino *et al.*, (1998) mengemukakan bahwa senyawa pada bintang laut famili *Asteriidae* mampu menghasilkan anti mikroba, ekstrak bintang laut *Asterina pectifera* aktif terhadap *Aspergillus sp.* dan *Cryptococcus neoformans* (Choi *et al.*, 1999), bintang laut *Anasterias minuta* berfungsi sebagai antifungal (Chludil *et al.*, 2000). Senyawa bintang laut *Aphelasterias japonica* bersifat hemolitik (Ivanchina *et al.*, 2000), kandungan saponin yang terdiri atas polihidroksisterol dan monosakarida serta disakarida banyak ditemukan pada bintang laut dari kelas *Asteroidea* (Iorizzi *et al.*, 2001). Senyawa bintang laut *Certonardoia semiregularis* mengandung antiviral (Wang *et al.*, 2002) selanjutnya dilaporkan bahwa beberapa senyawa yang terdapat pada bintang laut *Certonardoia semiregularis* berfungsi sebagai sitotoksik (Wang *et al.*, 2004).

Bintang laut *Asterias forbesii* merupakan spesies yang memiliki kelimpahan tertinggi di perairan pantai pulau Poncan Gadang Sumatera Utara (Alexander, 2012). Penelitian tentang aktifitas *A. forbesii* terhadap bakteri belum pernah dilakukan, hal inilah yang mendasari perlunya dilakukan penelitian tentang aktifitas anti bakteri spesies *A. forbesii* terhadap beberapa jenis bakteri patogen.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis komponen bioaktif yang terkandung dalam bintang laut, mengetahui sifat toksisitas senyawa metabolit sekunder hasil ekstraksi dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* serta mengetahui aktivitas senyawa antibakteri bintang

laut terhadap beberapa bakteri patogen diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas auroginosa* dan *Escherichia coli*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa bintang laut *Asterias forbesii* segar yang telah dikeringkan menggunakan *freeze drying*. Bakteri uji yang digunakan merupakan jenis bakteri yang diperoleh secara komersil yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas auroginosa* dan *Escherichia coli*.

Ekstraksi Bintang Laut Kering

Tahap ekstraksi dilakukan menggunakan ekstraksi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yaitu pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Sampel tepung bintang laut sebanyak 100 gram dimasukkan dalam Erlenmeyer, kemudian diberi pelarut n-heksana sebanyak 200 ml lalu Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan permukaan Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*. Selanjutnya, sampel dimaserasi selama 24 jam menggunakan orbital shaker 150 rpm, sedangkan filtrat ekstrak n-heksana yang diperoleh dievaporasi hingga pelarut memisah dengan ekstrak menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45 °C.

Hasil proses maserasi ke-2 selanjutnya disaring dengan kertas Whatman 42. Residu yang dihasilkan dilarutkan kembali dengan etil asetat p.a. sebanyak 200 ml dan dimaserasi selama 24 jam menggunakan orbital shaker 150 rpm, sedangkan filtrat ekstrak etil asetat yang diperoleh dievaporasi hingga pelarut memisah

dengan ekstrak menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45 °C.

Hasil proses maserasi ke-3 selanjutnya disaring dengan kertas Whatman 42. Residu yang dihasilkan dilarutkan kembali dengan metanol p.a. sebanyak 200 ml dan dimaserasi selama 24 jam menggunakan orbital shaker 150 rpm, sedangkan filtrat ekstrak metanol yang diperoleh dievaporasi hingga pelarut memisah dengan ekstrak menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45 °C. Proses ini akan menghasilkan ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol.

Uji Komponen Senyawa Kimia

Sebanyak 5 gram sampel ekstrak bintang laut ditambahkan masing-masing 5 ml air suling dan kloroform lalu dikocok kuat dan dibiarkan selama 8 menit sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air ekstrak bintang laut digunakan untuk uji senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Lapisan kloroform ekstrak bintang laut digunakan untuk uji senyawa triterpenoid dan steroid, sedangkan untuk uji alkaloid memiliki prosedur tersendiri.

1. Uji Flavonoid

Beberapa tetes lapisan air ekstrak bintang laut dimasukkan pada plat tetes lalu tambahkan 1-2 butir logam magnesium dan beberapa tetes asam klorida pekat. Terbentuknya warna jingga, merah muda sampai merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

2. Uji Fenolik

Beberapa tetes lapisan air ekstrak bintang laut dimasukkan pada plat tetes ditambah 1-2 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Bila terbentuk warna biru/ungu, menandakan adanya senyawa fenolik.

3. Uji Saponin

Lapisan air ekstrak bintang laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dikocok. Apabila terbentuk busa yang bertahan selama 5 menit, menandakan positif adanya saponin.

4. Uji Triterpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform ekstrak bintang laut disaring melalui pipet yang diujungnya diberi kapas. Hasil saringan dipipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes. Setelah kering ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Terbentuknya warna merah jingga menandakan bahwa positif adanya triterpenoid dan warna hijau-biru positif adanya steroid.

5. Uji Alkaloid

Pengujian adanya senyawa alkaloid, digunakan metode Culvenor-Fitzgerald. Tambahkan 2 mg ekstrak dengan 10 ml larutan kloroform beramoniak 0,05 M, diaduk kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1 ml asam sulfat 2 N, dikocok selama 2 menit dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan dan terjadi pemisahan. Lapisan asam (bagian atas) diambil dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi Mayer atau pereaksi *Dragendorff*, terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer atau warna merah dengan pereaksi *Dragendorff* menunjukkan hasil yang positif untuk alkaloid.

Uji Toksisitas Bintang Laut

Uji toksisitas bintang laut dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menurut Albuntana (2011), Ekstrak bintang laut yang telah disiapkan diujikan terhadap organisme larva udang naupli A.

salina pada berbagai konsentrasi yang telah ditentukan, lalu diamati aktifitasnya selama 24 jam.

Pengujian toksisitas dilakukan secara bertahap melalui pembiakan benur *A. Salina* selama 48 jam agar menetas menjadi larva. Larva-larva *A. salina* yang telah menetas dipindah ke sisi yang terbuka dan terkena cahaya, larva *A. salina* ini selanjutnya digunakan untuk uji toksisitas.

Pengujian dilakukan terhadap ekstrak total, fraksi dan senyawa murni dengan konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm. Sebanyak 20 mg masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 2 ml metanol maka akan diperoleh larutan dengan konsentrasi 10.000 ppm. Kemudian dari masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan 5 ml metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm setelah penambahan air laut. Kemudian dari larutan tersebut diambil sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan 5 ml metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm setelah penambahan air laut dan untuk konsentrasi 10 ppm dibuat dari konsentrasi sampel uji 100 ppm dengan cara yang sama. Masing-masing larutan diambil sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam vial uji dengan pengulangan masing-masing 3 kali. Masing-masing vial uji dibiarkan pelarutnya menguap, lalu dilarutkan kembali senyawa uji tersebut ke dalam 50 µl DMSO, selanjutnya ditambahkan air laut hampir mencapai batas kalibrasi. Larva udang dimasukkan pada masing-masing vial sebanyak 10 ekor lalu ditambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi, kematian larva udang diamati setelah 24 jam.

Untuk kontrol, 50 µl DMSO dipipet dengan pipet mikro ke dalam vial uji, lalu ditambahkan air laut hampir mencapai batas kalibrasi kemudian dimasukkan larva *A. salina* Leach sebanyak 10 ekor selanjutnya ditambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi.

Data persentase kematian larva udang diplotkan terhadap konsentrasi ekstrak bintang laut yang digunakan yang menghasilkan kurva regresi linier. Nilai LC_{50} ditentukan menggunakan persamaan kurva yang dihasilkan.

Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas anti bakteri dari bintang laut dilakukan dengan cara melakukan pengujian ekstrak dari berbagai pelarut yang digunakan yakni n-heksana, etil asetat dan metanol terhadap bakteri patogen (*S. aureus*, *B. subtilis*, *P. auroginosa* dan *E. coli*) dengan menggunakan kertas cakram (*oxoid*) yang berdiameter 6 mm. Cakram dimasukkan ke dalam cawan petri kosong steril. Larutan ekstrak yang telah diencerkan dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm dan 500 ppm masing-masing dipipet sebanyak 10 µl, selanjutnya diteteskan pada permukaan cakram dan biarkan selama 10 menit sehingga larutan ekstrak berdifusi ke dalam cakram. Selanjutnya sebanyak 10 ml media MHA (*Mueller Hilton Agar*) untuk menumbuhkan bakteri dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Dengan menggunakan *cotton bud* steril pada suspensi biakan bakteri (10^8 sel/ml) diusapkan perlahan-lahan secara merata pada permukaan media, selanjutnya dibiarkan mengering pada suhu kamar selama beberapa menit. Dengan menggunakan pinset steril, cakram

yang telah ditetesi ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda diletakkan secara teratur pada permukaan media uji. Setelah media benar-benar padat lalu bungkus biakan tersebut dengan menggunakan plastik wrap dan kertas, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengamatan dilakukan terhadap zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram kertas yang menunjukkan adanya aktivitas anti mikroba lalu dilakukan pengukuran diameter tersebut dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan terhadap semua mikroba uji. Perlakuan kontrol positif yaitu menggunakan anti biotika amoksan 30 µl dan perlakuan kontrol negatif menggunakan pelarut yang merupakan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 10 µl. Aktivitas anti mikroba dinyatakan positif apabila terbentuk zona bening di sekeliling cakram dan aktivitas anti mikroba dinyatakan negatif apabila tidak terbentuk zona bening.

Pembuatan Plat Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Bubur silika dibuat dengan menambahkan 150 mL silika (300-400 mesh) ke dalam 75 ml air (akuades) dingin (2:1 v/v). Plat kaca yang kering dan bersih dengan ukuran 20 x 20 cm disiapkan pada alat pencetak/pembuat plat KLT. Pada penelitian ini ketebalan silika pada plat dibuat setebal 1 mm yang mampu menampung ±50 mg sampel. Sambil diaduk bubur silika tersebut dituangkan ke cetakan dan secara hati-hati cetakan yang berisi bubur silika ditarik/digeser dari sisi satu ke sisi yang lain sehingga bubur silika tersebut tersebar secara merata di atas plat kaca. Setelah bubur silika rata, kemudian plat tersebut dibiarkan pada suhu ruang selama

±12 jam. Setelah itu plat yang sudah jadi diaktivasi dengan cara memanaskan pada suhu 100 °C dalam oven selama ±30 menit dan plat siap untuk digunakan

Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.

Chamber dijenuhkan dengan pelarut pengembang dengan cara melapisi *chamber* dengan kertas saring, kemudian pelarut pengembang (EtOAc:MeOH, 3:2 v/v) dimasukkan ke dalam *chamber* sampai seluruh kertas saring basah oleh pelarut. Larutan ekstrak metanol dari bintang laut ditotolkan pada garis batas bawah plat KLT preparatif yang berukuran 20x20cm yang telah diberi batas sebelumnya sampai plat jenuh oleh larutan ekstrak (penotolan 3 cm dari batas bawah), plat dibiarkan kering selama ±15 menit lalu dimasukkan ke dalam *chamber* yang sudah jenuh dan dielusi sampai pelarut mencapai bagian atas plat. Noda yang terbentuk dilihat di bawah sinar UV dan pola pemisahan noda tersebut digambar dengan menggunakan pensil. Pola noda yang telah digambar kemudian dikerok dengan spatula dan masing-masing noda dipisahkan ke dalam vial untuk selanjutnya dicuci dan dipisahkan dengan silikanya. Senyawa-senyawa yang telah terpisah dengan silika tersebut pelarutnya diuapkan dan dilakukan uji antimikroba. Senyawa yang menunjukkan sifat aktif terhadap uji antimikroba dilakukan uji senyawa kimia untuk mengetahui golongan senyawa tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN **Uji Toksisitas Ekstrak Bintang Laut *A. forbesii***

Jenis bintang laut *Asterias forbesii* ini memiliki karakteristik tubuh yang terdiri atas keping utama dengan lima buah lengan pipih dan berwarna agak putih dan cemerlang. Setelah dilakukan proses

pengeringan bintang laut memiliki karakteristik yang berbeda yakni berwarna putih kecoklatan dan tidak berbau. Morfologi bintang laut *A. forbesii* dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. (A) Bintang laut segar dan (B) bintang laut setelah dikeringkan

Proses ekstraksi dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda akan menghasilkan ekstrak kasar bintang laut yang kental dan berbeda tingkat kepolarannya. Masing-masing ekstrak juga memiliki karakteristik yang berbeda-beda pula. Ekstrak n- heksana dan ekstrak metanol memiliki karakteristik warna coklat tua berbentuk pasta kental namun untuk ekstrak etil asetat memiliki tekstur

yang agak kering, tiga ekstrak memiliki aroma khas menyerupai produk petis.

Komponen Senyawa Kimia Ekstrak Bintang Laut *A. forbesii*

Hasil pengujian senyawa kimia yang telah dilakukan terhadap masing-masing pelarut yang digunakan dalam penelitian yakni pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol.

Tabel 1. Hasil uji senyawa kimia ekstrak kasar bintang laut *A. Forbesii*

Uji Senyawa kimia	Jenis Pelarut			Hasil (warna)
	n-heksana	Etil asetat	Metanol	
Alkaloid:				
Dragendorff	-	-	+	Endapan merah
Meyer	-	-	-	-
Triterpenoid/steroid	+	+	+	Jingga
Flavonoid	-	-	+	Kuning
Saponin	+	+	+	Terbentuk busa selama 5 menit
Fenol hidrokuinon	-	-	-	-

Dari Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak kasar pada bintang laut *A. forbesii* menggunakan pelarut metanol mengandung komponen senyawa kimia yang lebih banyak dibandingkan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat. Komponen

bioaktif yang terdapat pada ekstrak bintang laut dengan pelarut metanol antara lain alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan saponin. Komponen bioaktif yang terdeteksi pada ekstrak bintang laut dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat

antara lain, terpenoid dan saponin. Berdasarkan hasil dari uji senyawa kimia ini menunjukkan bahwa ekstrak bintang laut mengandung 4 dari 5 komponen yang diuji dengan metode fitokimia.

Metabolit sekunder berupa alkaloid hanya dijumpai pada ekstrak metanol setelah ditetesi dengan pereaksi *dragendorff* yang ditandai dengan terbentuknya endapan merah. Sebagian alkaloid bersifat basa sehingga sangat mudah larut dalam air. Air merupakan pelarut polar, demikian halnya dengan metanol, sehingga alkaloid dapat larut dalam metanol (Hannifa *et al.* 2010).

Dari hasil uji senyawa kimia terlihat bahwa kandungan triterpenoid terdapat pada ekstrak semua ekstrak yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Van Thanh (2006), telah berhasil mengisolasi triterpen glikosida *Holothuria scabra* yang terbukti mampu menjadi agen anti jamur, anti

bakteri dan sitotoksik. Menurut Gunawan (2008), beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa turunan terpenoid memiliki aktivitas sebagai anti mikroba yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid(-)hardwicklicacid, phytol, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida. Triterpen glikosida dapat dimurnikan menjadi *holothurin* yang bersifat toksik sehingga mampu digunakan sebagai anti bakteri.

Uji Toksisitas Ekstrak Bintang Laut *A. Forbesii*

Uji toksisitas ekstrak bintang laut dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap masing-masing ekstrak dengan pelarut yang berbeda serta menggunakan tiga konsentrasi yang berbeda yakni 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm. Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis regresi sehingga diperoleh nilai LC_{50} seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai LC_{50} Ekstrak Bintang Laut *A. forbesii* Terhadap Larva *A. Salina*

Ekstrak (pelarut)	Nilai LC_{50} (ppm)
n- heksana	1412,54
Etil asetat	13182,57
Metanol	63,10

Dari Tabel 2 terlihat bahwa nilai LC_{50} yang diperoleh dari uji toksisitas menghasilkan hasil yang berbeda-beda pada masing-masing pelarut ekstrak bintang laut *A. forbesii*. Dari nilai tersebut dapat menunjukkan sifat toksisitas ekstrak terhadap larva *A. salina*. Meyer *et al.*, (1982) mengatakan bahwa pada metode BSLT, sampel uji dikatakan aktif jika LC_{50} kecil dari 1000 ppm. Sehingga dengan demikian dapat dikatakan bahwa hanya ekstrak metanol yang bersifat toksik. Bila

bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva *A. salina*, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif (Meyer *et al.*, 2003).

Hasil pengujian yang telah dilakukan terlihat bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, maka mortalitas larva *A. salina* juga semakin besar. Mortalitas yang

terjadi disebabkan adanya pengaruh sifat toksik dari ekstrak bintang laut *A. forbesii*. Nurhayati (2006) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak sifat toksiknya semakin tinggi.

Prosentase mortalitas larva *A. salina* pada ekstrak bintang laut *A. forbesii* dengan pelarut metanol yang memperlihatkan nilai LC_{50} yang bersifat toksik yaitu 63,096 ppm jika dibandingkan dengan ekstrak bintang laut yang menggunakan pelarut n-heksan dan pelarut etil asetat yang dinyatakan tidak toksik karena memiliki nilai LC_{50} lebih besar dari 1000.

Mekanisme kematian larva *A. salina* berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, steroid, dan flavonoid dalam ekstrak bintang laut *A. forbesii* yang dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut, oleh karena itu bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali

makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan (Rita *et al.*, 2008).

Uji Ekstrak Kasar Bintang Laut *A. Forbesii* Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen

Hasil pengujian ekstrak kasar bintang laut *A. forbesii* terhadap beberapa jenis bakteri pathogen (*S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*) dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa ekstrak metanol menghasilkan zona hambat terbesar terhadap bakteri *S.aureus* yaitu sebesar 9,5 mm pada konsentrasi 100 ppm, terhadap bakteri *B. subtilis* menghasilkan zona hambat sebesar 8,5 mm pada konsentrasi 100 ppm, terhadap bakteri *P. aeruginosa* menghasilkan zona hambat sebesar 10 mm pada tingkat konsentrasi 100 ppm sedangkan terhadap bakteri *E.coli* menghasilkan zona hambat sebesar 11 mm pada konsentrasi 100 ppm. Dari zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang diujikan terlihat bahwa ekstrak metanol lebih mampu menghambat bakteri gram negatif *E. coli* dan *P. Auroginosa* dibandingkan bakteri gram positif *S.aureus* dan *B. Subtilis*.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Ekstrak Kasar Bintang Laut *A. forbesii* Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen

Jenis Bakteri	Konsentrasi (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)		
		Metanol	Etil asetat	n- heksan
kontrol	-	6	6	6
<i>S. aureus</i>	50	7,0	7,0	7,0
	100	9,5	7,5	7,0
	250	8,0	8,5	7,0
	500	7,5	7,0	8,0
<i>B. subtilis</i>	50	7,0	7,5	7,0
	100	8,5	8,0	8,0
	250	8,0	8,0	7,0
	500	8,0	7,0	7,0

	50	8,0	8,0	7,0
<i>P. aeruginosa</i>	100	10,0	7,0	7,0
	250	9,0	7,0	7,0
	500	8,0	7,0	7,0
	50	9,0	7,0	7,0
<i>E. coli</i>	100	11,0	7,0	7,5
	250	9,0	8,5	7,5
	500	8,5	8,0	7,0

Besarnya diameter zona hambat masing-masing ekstrak dipengaruhi oleh adanya senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak tersebut. Dari hasil uji senyawa kimia yang telah dilakukan bahwa pada ekstrak metanol bintang laut *A. forbesii* mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid, senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi sebagai anti bakteri. Farouk *et al.* (2007) menyatakan bahwa metabolit sekunder dalam *Holothuria scabra* yang berpotensi sebagai senyawa anti bakteri adalah golongan atau turunan dari senyawa terpenoid, diantaranya saponin, steroid dan triterpenoid. Golongan senyawa tersebut memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel tersebut rusak.

Senyawa alkaloid yang dihasilkan ekstrak bintang laut *A. forbesii* dapat berpotensi sebagai anti bakteri karena dapat merusak dinding sel. Juliantina (2008), menyatakan senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, menurut Gunawan (2008) dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri.

Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri.

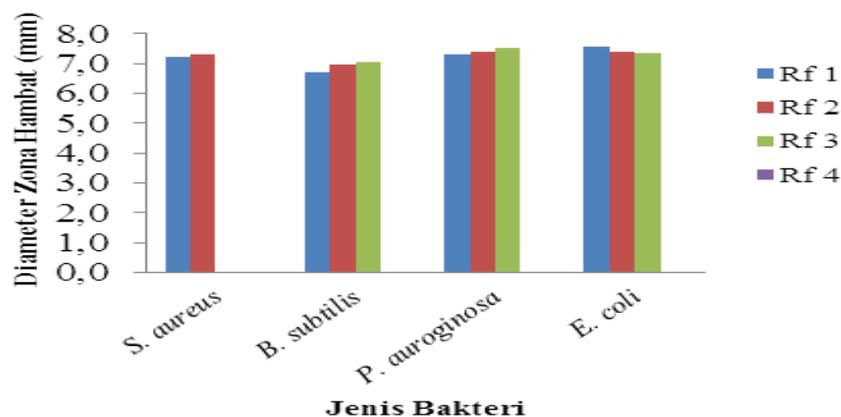
Menurut Ganiswarna (1995) saponin bekerja sebagai anti bakteri dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok anti bakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida

Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Sabir, 2008). Mirzoeva *et al.*, (1997) berpendapat bahwa flavonoid mampu menghambat motilitas bakteri. Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Di Carlo *et al.*, (1999) yang menyatakan bahwa

gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri. Sedangkan senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan mikroba yakni dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Uji Senyawa Aktif Pada Ekstrak Metanol Bintang Laut *A. forbesii* Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen

Uji senyawa aktif ekstrak metanol bintang laut *A. forbesii* dilakukan dengan menggunakan metode KLT preparatif. Dari hasil pengujian diperoleh empat noda yang diindikasikan sebagai senyawa (Rf) yang terkandung dalam ekstrak. Diameter zona hambat yang dihasilkan dari keempat senyawa (Rf) ekstrak dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Diameter Zona Hambat Senyawa Hasil KLT Ekstrak Metanol Bintang Laut *A. forbesii* Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen. (Rf1) 0,20. (Rf2) 0,32. (Rf3) 0,38 dan (Rf4) 0,09.

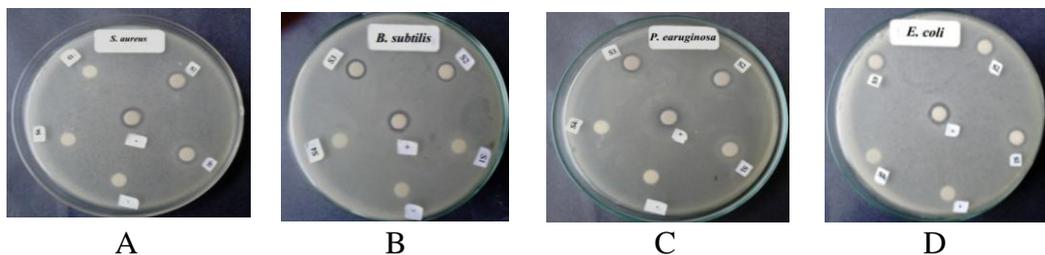
Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa dari keempat noda yang dihasilkan hanya tiga noda yang mampu menghambat aktifitas bakteri uji. Selain itu juga terlihat bahwa Rf 3 aktif terhadap bakteri Gram negatif dan tidak aktif terhadap bakteri Gram positif *S. aureus*. Rf 1 dan 2 aktif terhadap semua bakteri Gram negatif dan kurang aktif terhadap bakteri Gram positif. Rf 4 tidak aktif terhadap semua bakteri baik bakteri Gram negatif maupun bakteri Gram positif. Nimah *et al.*, (2012) menyatakan ekstrak anti bakteri dari *H. scabra* lebih efektif menyerang

bakteri Gram negatif daripada bakteri Gram positif. Hal ini disebabkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis daripada bakteri Gram positif. Menurut pendapat Pelczar dan Chan (2008), bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis yang terdiri dari 10% peptidoglikan, lipopolisakarida dan kandungan lipid tinggi (11-22%), sedangkan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal yang terdiri dari 60-100% peptidoglikan dan lipid rendah (1-4%). Hasil pengamatan terhadap

zona hambat senyawa ekstrak metanol terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa ekstrak metanol mampu menghambat beberapa jenis bakteri patogen dengan diameter yang berbeda-beda karena dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah konsentrasi ekstrak yang digunakan, serta kemampuan dari bakteri dalam melakukan aktifitas dalam melawan zat atau senyawa yang terkandung

dalam ekstrak. Menurut Khunaifi (2010), salah satu faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat dan pola resistensi oleh bakteri dengan cara menurunkan permeabilitas dinding sel bakteri sehingga antibakteri sulit masuk dalam sel, membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh antibakteri, dan meningkatkan produksi enzim yang dihambat oleh antibakteri.



Gambar 3. Zona Hambat Senyawa pada Ekstrak Metanol Bintang Laut *A. forbesii* Terhadap Bakteri Patogen (A) *S. aureus*, (B) *B. subtilis*, (C) *P. auroginosa*, dan (D) *E. coli*

Uji Senyawa kimia Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Bintang Laut *A. forbesii*

Senyawa-senyawa yang aktif terhadap uji anti mikroba selanjutnya dilakukan uji senyawa kimia kembali untuk menentukan golongan dari senyawa aktif tersebut. Berdasarkan uji anti mikroba, uji senyawa kimia

dilakukan terhadap senyawa Rf1, Rf2 dan Rf3 karena senyawa-senyawa tersebut menunjukkan aktif terhadap uji anti mikroba, kecuali senyawa Rf4 tidak memiliki aktivitas sama sekali. Hasil pengujian senyawa kimia terhadap senyawa aktif pada ekstrak bintang laut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Senyawa kimia Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Bintang Laut *A. Forbesii*

Golongan	Rf1	Rf2	Rf3
Alkaloid	-	-	-
Saponin	-	-	-
Triterpenoid	+++ (jingga)	++ (jingga)	+ (jingga)
Steroid	-	-	-
Flavonoid	-	-	-
Fenolik	-	-	-

Hasil uji senyawa kimia yang dilakukan menunjukkan bahwa ketiga Rf (senyawa) tersebut adalah golongan triterpenoid dengan

memberikan warna jingga terhadap reagen atau pereaksi Liberman Buchard (LB). Rf1 memiliki kandungan senyawa yang paling

tinggi diikuti oleh Rf2 dan Rf3. Hal ini dapat dinyatakan bahwa senyawa-senyawa (Rf1, Rf2 dan Rf3) tersebut juga memiliki aktivitas anti bakteri (Gambar 3), sehingga dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif terhadap uji anti mikroba yang terdapat dalam ekstrak metanol bintang laut adalah senyawa-senyawa golongan terpenoid. Mekanisme terpenoid sebagai anti bakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. ekstrak bintang laut *A. forbesii* memiliki komponen biotif yang berupa alkaloida, triterpenoida/steroida, flavonoida dan saponin yang terdapat pada ekstrak metanol sedangkan pada ekstrak n-heksana dan etil asetat hanya mengandung komponen bioaktif saponin dan triterpenoida/steroida.
2. Setelah dilakukan pengujian sifat toksisitas senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak bintang laut dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* diperoleh hasil hanya

ekstrak metanol yang bersifat toksik.

3. Dari keempat senyawa pada ekstrak metanol yang dihasilkan pada pengujian KLT secara preparatif dapat dinyatakan bahwa senyawa triterpenoida yang mampu menghambat aktifitas bakteri patogen dengan kemampuan yang lebih aktif pada bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas auroginosa*) dibandingkan dengan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*).

Saran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan terutama tentang antibakteri dari ekstrak bintang laut *A. forbesii* maka disarankan agar dapat dilakukan isolasi senyawa murni yang terdapat pada ekstrak bintang laut secara lebih mendalam dan melihat mekanisme penghambatan senyawa tersebut dalam menghambat bakteri serta dilakukan pengujian sifat toksisitas golongan senyawa aktif ekstrak bintang laut setelah dilakukan pengujian KLT preparatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Journal Bioscientie*, 1(1):31-8.
- Alexander. 2012. Distribusi Bintang Laut (*Asteroidea* sp) Pada Perairan Pulau Poncan Gadang Sibolga Sumatera Utara. Skripsi. Universitas Riau
- Chludil, H, Maier, MS, Seldes AM. 2000. Bioactive steroidal

- glycosides from starfish *Anasterias minuta*. *Molecules* 5:352-353.
- Choi, D.H., Shin, S. dan I.K., Park. 1999. Characterization of antimicrobial agents extracted from *Asterina pectifera*. *Int. Journal Antimicrob. Agents.*, 11: 65–68.
- Cowan, M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4):564-582.
- De Marino, S., Iorizzi, M., Palagianò, E., Zollo, E., dan Roussakis, C. 1998. Isolation, structure elucidation, and biological activity of the steroid oligoglycosides from an Antarctic starfish of the family Asteroidea. *Journal. Nat. Prod.*, 61:1319-1327.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A. dan Capasso, F. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Science*; 65(4):337–53.
- Farouk, A.E., Faizal, A.H.G. dan Ridzwan, B.H. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian *Sea Cucumbers* with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 3(2):60-65.
- Ganiswarna, S. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. Penerbit UI : Jakarta.
- Gunawan. 2008. Antibakteri pada herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn), *Jurnal Kimia*, 2(22) :31-39.
- Harefa, F. 1997. Pembudidayaan *Artemia salina* untuk Pakan Udang dan Ikan. Swadaya, Jakarta.
- Iorizzi, M., De Marino, S. dan Zollo, E. 2001. Steroidal oligoglycosides from the Asteroidea. *Current Organic Chemistry*. 5:951-973.
- Ivanchina, N.V., Kicha, A.A., Kalinovskiy, A.I., Dmitrenok, P.S., Stonik, V.A., Riguer, R. dan Jimenez, C. 2000. Hemolytic polar steroidal constituents of the starfish *Aphelasterias japonica*. *Journal. Nat. Prod.*, 63:1178-1181.
- Juliantina, F.R., Citra, D.A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T. dan Bowo, E.T. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakteri Terhadap Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. (Skripsi) Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.

- Meyer, B.N.R., Ferrigni, J.E., Putnam, L.B., Jacobsen, D.E., Nicholas, dan McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Plant Med.* 45:31-34.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L.B. dan Nichols, D.E. 2003. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Plant Med.* 45 : 31-34.
- Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. and Calder, P.C. 1997. Microbiol Res : Antimicrobial action of propolis dan some of its components: the effects on growth, membrane potential, dan motility of bacteria. *Journal Microbiol Res.* 152:239-246.
- Nimah, S., Farid, W.M., Trianto, A. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan*, 1(2):1-9
- Nurhayati, A.P.D., Abdulgani, N. dan Febrianto, R. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* Terhadap *Artemia salina* sebagai studi pendahuluan anti kanker. *Akta Kimindo* 2(1):41-46
- Pelczar, M.J, Chan, E.C.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Hadioetomo *et al.*, penerjemah. Jakarta: UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Rita, W.S., Suirta, I.W., dan Sabikin, A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. *Jurnal Kimia*, 2:1907-9850.
- Wang, W., Li, R., Alam, N., Liu, Y., Lee, C.-O., Hong, J., Lee, C.K., Im, K.S. dan Jung, J.H. 2002. New saponins from the starfish *Ceratonarchoa semiregularis*. *Journal Nat. Prod.*, 65:1649-1656.
- Wang, W., Hong, J., Lee, C.-O., Im, K.S. dan Jung, J. H. 2004. Cytotoxic sterols and saponins from the starfish *Ceratonarchoa semiregularis*. *Journal Nat. Prod.* 67:584-591. 591.