

# KANDUNGAN KOMPONEN BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIMIKROB EKSTRAK BINTANG LAUT (*Culcita schmideliana*)

## *Bioactive Compound and Antimicrobial Activities of Sea Star Culcita schmideliana Extract*

Kustiariyah Tarman<sup>1,2\*</sup>, Hana Nurullita Prestisia<sup>1</sup>, Iriani Setyaningsih<sup>1</sup>,  
Meydia<sup>2</sup>, Yogiara<sup>3</sup>, Jae-Kwan Hwang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor <sup>2</sup>Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Institut Pertanian Bogor

<sup>3</sup>Department of Biotechnology, Yonsei University, Republic of Korea, Seodaemun-gu Seoul 120749  
Diterima 18 Oktober 2012/Disetujui 24 Desember 2012

### Abstract

Sea star *Culcita schmideliana* is a species from an Asteroidean class which is potential as antimicrobial source. The aims of this study were to investigate the active compounds of the extracts and their antimicrobial activity. Phytochemical test, antimicrobial assay, fractionation with thin layer chromatography, and bioautography were performed in this study. The result of the qualitative phytochemical test showed that methanol extract contained alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, and ninhidrin, whereas n-hexane and ethyl acetate extracts contained steroids and saponins. The highest antimicrobial activity was showed by ethyl acetate extract at 2 mg/well with diameter of inhibition zone was 16 mm. Fractination with TLC revealed 7 spots under UV light at  $\lambda$  254 and one spot at  $\lambda$  366 nm. Bioautography of ethyl acetat extract using *B. subtilis* revealed inhibition zone at  $R_f$  = 0.02 (7 mm) and  $R_f$  = 0.62 (3 mm).

Key words: *antimicrobial, bioautography, phytochemical, thin layer chromatography*

### Abstrak

Bintang laut *Culcita schmideliana* merupakan salah satu spesies dari kelas Asteroidea yang memiliki potensi sebagai antimikrob. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan komponen bioaktif dan aktivitas antimikrob dari bintang laut *C. schmideliana*. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa uji, yaitu uji komponen fitokimia, uji aktivitas antimikrob, dan fraksinasi dengan kromatografi lapis tipis, serta bioautografi. Hasil uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan ninhidrin, sedangkan ekstrak n-heksan dan etil asetat mengandung steroid dan saponin. Aktivitas antimikrob terbesar ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 2 mg yaitu sebesar 16 mm. Fraksinasi KLT diidentifikasi memiliki 7 bercak pada lampu sinar UV  $\lambda$  254 nm dan UV  $\lambda$  366 nm menghasilkan 1 bercak. Pengamatan bioautografi terhadap bakteri *B. subtilis* menghasilkan zona hambat sebesar 7 mm pada  $R_f$  = 0,02 dan pada  $R_f$  = 0,62 menghasilkan zona hambat sebesar 3 mm.

Kata kunci: antimikrob, bioautografi, fitokimia, kromatografi lapis tipis

### PENDAHULUAN

Mikrob patogen merupakan salah satu penyebab penyakit pada manusia dan makhluk hidup lainnya. Banyak usaha yang

telah dilakukan untuk melawan mikrob patogen tersebut yaitu dengan menemukan senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri. Senyawa-senyawa tersebut dikenal dengan nama antibiotik (Pelczar dan Chan 2008). Penggunaan antibiotik sintetik maupun semi-

\*Korespondensi: Jln. Lingkar Akademik, Kampus IPB Dramaga. Telp. +622518622915 Fax. +622518622916  
e-mail: E-mail: kustya@gmail.com

sintetik umumnya memiliki efek samping yang tidak diharapkan terutama apabila antibiotik tersebut digunakan secara terus-menerus.

Produk bahan alam yaitu metabolit sekunder, baik senyawa murni maupun dalam bentuk ekstrak, memiliki peluang untuk dikembangkan dalam dunia pengobatan. Senyawa bahan alam tersebut memiliki efek terapis yang signifikan terhadap bakteri, jamur, maupun virus yang bersifat patogen terhadap hewan dan manusia. Efek terapis yang ditimbulkan lebih aman tanpa efek samping (Parthasarathy *et al.* 2009).

Biota laut potensial sebagai sumber antimikrob, diantaranya adalah bintang laut *Certanardoa semigularis* (Wang *et al.* 2003), *Anasterias minuta* (Chludil *et al.* 2000; Maier *et al.* 2007), spons *Axinella* sp. (Heras dan Hortelano 2009), timun laut (Samuel *et al.* 2011), dan bulu babi *Tripneustes gratilla* (Abubakar *et al.* 2012). Bintang laut *Culcita schmideliana* merupakan salah satu spesies dari kelas Asteroidea dan merupakan kelompok Echinodermata. Bintang laut ini banyak ditemukan di Perairan Pantai Lampung. Populasi bintang laut yang melimpah ini yang mendasari penelitian ini untuk mengetahui potensi komponen bioaktif dan aktivitas antimikrob ekstrak bintang laut.

Beberapa penelitian tentang senyawa bioaktif dari bintang laut masih terbatas pada penemuan senyawa yang belum diketahui aktivitasnya. Tang *et al.* (2005) dan Guo *et al.* (2009) menyatakan bahwa steroidal glikosid merupakan metabolisme utama dari bintang laut dan umumnya mengandung racun. Bintang laut memiliki komponen aktif yang dibagi menjadi tiga kelompok utama berdasarkan strukturnya yaitu asterosaponin, siklus steroidal glikosid dan glikosid dari steroid *polyhydroxylated*. Guo *et al.* (2009) menyatakan bahwa asterosaponin memiliki potensi aktivitas biologis yang berguna sebagai antikanker, antibakterial, antiviral dan antifungi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya informasi mengenai kandungan senyawa bioaktif dan aktivitas antibakteri bintang laut

yang dapat bermanfaat bagi bidang pangan, farmasi dan industri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan komponen bioaktif dan aktivitas antimikrob dari bintang laut *Culcita schmideliana*.

## MATERIAL DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bintang laut *Culcita schmideliana*. Bahan yang dibutuhkan untuk analisis kimia dan biologi yaitu n-heksana, etil asetat, metanol, pereaksi Wagner, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, kloroform, anhidra asetat, asam sulfat pekat, serbuk magnesium, amil alkohol, air panas, larutan HCl 2 N, etanol 70%, larutan FeCl<sub>3</sub> 5%, dan larutan ninhidrin 0,1%, media *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, *Muller Hilton Agar II*, mikroorganisme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida maltosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, silika G<sub>60</sub>F<sub>254</sub> dan eluen (fase gerak) etil asetat: kloroform: asam format (3:7:0,05).

Alat yang digunakan yaitu *freeze dryer*, Erlenmeyer 500 mL, *aluminium foil*, kapas, *orbital shaker*, corong terpisah, kertas saring Whatman 42, *rotary evaporator*, sudip, vortex, tabung reaksi, pipet tetes, tabung reaksi, lup, cawan petri, pipet, botol vial, *shaker waterbath*, spektrofotometer UV-VIS, inkubator, gelas, dan pipet volumetrik.

### Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu pengambilan, preparasi dan ekstraksi bahan baku; uji komponen fitokimia, uji aktivitas antimikrob, dan fraksinasi dengan kromatografi lapis tipis serta bioautografi.

Bahan baku bintang laut *C. schmideliana* diambil dari Perairan Lampung Selatan. Bintang laut kemudian dikeringkan dengan suhu rendah menggunakan *freeze dryer*. Tujuan proses pengeringan adalah mengurangi kadar air dalam bahan. Bintang laut yang telah kering dihaluskan dengan *hammer mills*, sehingga didapat tekstur yang halus.

Metode ekstraksi bahan baku mengacu pada Iswani (2001), tahap ekstraksi dilakukan dengan dua cara, yaitu ekstraksi tunggal menggunakan pelarut metanol dan ekstraksi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yaitu pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol, pelarut ini ditujukan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang mempunyai kepolaran yang berbeda, yaitu memisahkan senyawa non-polar, semi-polar dan polar. Metode fitokimia mengacu pada Harborne (1987), uji fitokimia dilakukan untuk menentukan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak kasar bintang laut masing-masing pelarut. Uji fitokimia yang dilakukan terdiri atas uji alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, dan ninhidrin.

Pengujian aktivitas antimikrob dilakukan dengan metode sumur agar (*agar well diffusion*) yang mengacu pada penelitian Moorthy *et al.* (2007). Sampel yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikrob adalah ekstrak bintang laut dengan proses ekstraksi bertingkat (n-heksana, etil asetat, dan metanol) dan dengan proses ekstraksi tunggal (metanol). Mikroorganisme yang digunakan antara lain *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *C. maltosa*, *B. subtilis*, dan *P. aeruginosa*.

Fraksinasi dengan kromatografi lapis tipis dan uji bioautografi mengacu pada penelitian Zheng *et al.* (2005). Ekstrak yang digunakan pada uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan bioautografi adalah ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri paling kuat, yaitu ekstrak etil asetat. Elusi dilakukan menggunakan eluen campuran, yaitu etil asetat: kloroform: asam format (3: 7: 0,05). Noda yang dihasilkan dari proses elusi masing-masing eluen diamati di bawah lampu UV pada  $\lambda$  254 nm dan 366 nm.

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui fraksi aktif antimikrob menggunakan KLT. Kromatogram diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi biakan bakteri *B. subtilis* kemudian diinkubasi selama 24 jam lalu dilihat bercak atau daerah yang berwarna bening merupakan daerah senyawa aktif berada.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Bintang Laut

Bintang laut *C. schmideliana* biasa dikenal dengan nama bintang bantal. Bintang laut ini terdapat dalam jumlah yang berlimpah dibandingkan dengan kelompok asteroid lainnya. Ciri fisik dari bintang laut *C. schmideliana* yaitu memiliki 5 buah tangan, tubuh yang tebal, dan berdiameter 15 cm. Permukaan bintang laut ini berwarna hijau muda dan memiliki latar berwarna hijau tua. Habitat bintang laut ini yaitu di daerah terumbu karang, pasir, dan padang lamun. Bobot bintang laut segar 1260,8 gram.

Bintang laut setelah dikeringkan memiliki karakteristik dengan ukuran yang lebih kecil, berwarna putih kecokelatan, dan tidak berbau. Bintang laut serbuk memiliki bobot yang lebih ringan dibandingkan bintang laut yang masih segar, yaitu sebesar 344,5 gram. Hal ini dikarenakan kadar air yang terkandung dalam bintang laut mengalami penyusutan akibat proses pengeringan. Kadar air yang terkandung dalam bintang laut yaitu sebesar 72,68%. Sampel serbuk bintang laut yang dapat dimanfaatkan dapat dinyatakan dengan rendemen. Nilai rendemen bintang laut yaitu sebesar 27,32%. Sampel serbuk bintang laut ini siap digunakan untuk proses ekstraksi.

### Ekstrak Komponen Aktif Bintang Laut *Culcita schmideliana*

Ekstrak etil asetat memiliki persentase rendemen terkecil yaitu 0,24%, sedangkan ekstrak metanol tunggal merupakan ekstrak yang memiliki rendemen terbesar yaitu 6,50%, ekstrak metanol tunggal 0,60% dan metanol bertingkat 4,35%. Hasil ini menunjukkan kadar ekstrak metanol (polar) bintang laut terdapat dalam jumlah yang paling banyak. Hasil penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Salamah *et al.* (2008) yang menunjukkan ekstrak polar dari kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) terdapat dalam jumlah yang paling banyak yaitu dengan rendemen sebesar 0,12% dibandingkan dengan ekstrak semipolar

dengan rendemen 0,10 % dan nonpolar dengan rendemen sebesar 0,04%. Nurhayati *et al.* (2009) menyatakan bahwa pelarut metanol diketahui dapat menarik semua komponen baik yang bersifat polar, semipolar maupun nonpolar. Metanol sebagai pelarut yang digunakan paling akhir pada proses ekstraksi diduga menarik semua komponen aktif yang tertinggal pada ekstraksi sebelumnya sehingga rendemen ekstrak metanol cukup besar.

Hasil uji fitokimia pada masing-masing ekstrak kasar bintang laut disajikan pada Tabel 1. Ekstrak kasar metanol mengandung komponen bioaktif yang lebih banyak dibandingkan ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat. Komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak metanol antara lain alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan ninhidrin. Ekstrak n-heksana dan etil asetat memiliki komponen bioaktif yaitu, steroid dan saponin. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak bintang laut mengandung 5 dari 6 komponen yang diuji dengan metode fitokimia, yaitu alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan ninhidrin.

### Aktivitas Antimikrob

Ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol bertingkat, dan metanol tunggal dari bintang laut diuji aktivitas antimikrobnya terhadap enam jenis mikroorganisme antara lain *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *C. maltosa*, *B. subtilis*, dan *P. aeruginosa*. Jumlah ekstrak yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikrob dalam setiap sumurnya yaitu sebesar 0,5 mg, 1 mg, dan 2 mg. Diameter zona hambat ekstrak n-heksana bintang laut terhadap mikroorganisme uji disajikan pada Tabel 2. Ekstrak kasar bintang laut dengan pelarut n-heksana tidak mempunyai aktivitas antimikrob yang ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat terhadap bakteri *E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* pada jumlah ekstrak n-heksana sebesar 0,5 mg dan *C. maltosa*. Aktivitas antimikrob ekstrak kasar bintang laut dengan pelarut n-heksana terlihat pada bakteri *P. aeruginosa* yaitu pada jumlah ekstrak 1 mg mempunyai zona hambat sebesar 6,5 mm dan pada jumlah ekstrak 2 mg mempunyai zona hambat sebesar 7 mm. Heksana merupakan pelarut yang paling

Tabel 1 Hasil uji fitokimia ekstrak kasar bintang laut *C. schmideliana*

Uji Fitokimia	Jenis Pelarut				Standar (warna)
	n-Heksan	Etil asetat	Metanol bertingkat	Metanol tunggal	
Alkaloid:					
a. Dragendorff	-	-	+	+	Endapan merah atau jingga
b. Meyer	-	-	-	-	Endapan putih kekuningan
c. Wagner	-	-	-	-	Endapan coklat
Steroid/ triterpenoid	+	+	+	+	Perubahan dari merah menjadi biru atau hijau
Flavonoid	-	-	+	+	Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau
Saponin	-	-	+	-	Terbentuk busa
Fenol	-	-	-	-	Warna hijau atau hijau biru
hidrokuinon	-	-	-	-	hijau biru
Ninhidrin	-	-	+	+	Warna biru

Tabel 2 Diameter zona hambat (mm) aktivitas antimikrob ekstrak kasar bintang laut *C. schmideliana*

Ekstrak (mg)	Mikroorganisme uji						
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. maltosa</i>	
n-Heksana	0,5	0	0	0	0	0	0
	1	0	6,5	0	0	0	0
	2	0	7	0	0	0	0
Kloramfenikol	45	30	39	34,5	36,5	38,5	
Etil asetat	0,5	0	7	0	7	7	7
	1	0	8	0	8,5	8	8,5
	2	0	13,5	7	15,5	10	9,5
Kloramfenikol	48	27,5	28,5	35	35	37	
Metanol bertingkat	0,5	0	0	0	7	0	0
	1	0	7	0	7,5	7	0
	2	0	8	0	8	8,5	0
Kloramfenikol	27,5	29,5	34,5	29,5	31	33,5	
Metanol tunggal	0,5	0	0	0	7	0	0
	1	0	7	7	7,5	8	0
	2	0	8,5	7,5	8,5	9,5	0
Kloramfenikol	42,5	33	33,5	28	33,5	38,5	

tidak polar diantara pelarut etil asetat dan metanol. Hasil uji aktivitas antimikrob (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak heksana memiliki diameter penghambatan pertumbuhan bakteri yang kecil.

Pengujian aktivitas antimikrob ekstrak n-heksana bintang laut *C. schmideliana* memiliki aktivitas yang berbeda dengan ekstrak n-heksana bintang laut *Protoreaster lincki*. Ekstrak n-heksana bintang laut *P. lincki* dapat menghambat *S. aureus* (2,01 mm), *B. subtilis* (1,11 mm), *Pseudomonas* sp. (1,18 mm), *E. coli* (1,02 mm), dan *C. albicans* (1,01 mm). Kontrol negatif menggunakan pelarut n-heksana tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sumur (Kumaran *et al.* 2011). Perbedaan zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu pH lingkungan, komposisi media, stabilitas senyawa antimikrob, besarnya inokulum, lamanya inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme (Jawetz *et al.* 1996).

Ekstrak etil asetat mempunyai aktivitas antimikrob terhadap bakteri *B. subtilis*,

*P. aeruginosa*, dan *L. monocytogenes*. Ekstrak etil asetat juga mempunyai aktivitas antifungi terhadap khamir *C. maltosa*. Zona hambat ekstrak 0,5 mg sebesar 7 mm, pada jumlah ekstrak 1 mg mempunyai zona hambat berkisar antara 8 mm sampai 9 mm, dan pada jumlah ekstrak 2 mg mempunyai zona hambat yang cukup besar dibandingkan dengan jumlah ekstrak lainnya, yaitu berkisar antara 9 mm sampai 16 mm.

Aktivitas antimikrob ekstrak etil asetat bintang laut *C. schmideliana* memiliki hasil yang berbeda dengan ekstrak etil asetat bintang laut *P. lincki*. Ekstrak etil asetat bintang laut *P. lincki* dapat menghambat mikrob mikrob *S. aureus* (5,01 mm), *B. subtilis* (1,06 mm), *Pseudomonas* sp. (1,05 mm), *E. coli* (1,1 mm), dan *C. albicans* (2,01 mm). Kontrol negatif menggunakan pelarut etil asetat tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sumur (Kumaran *et al.* 2011).

Ekstrak metanol yang diekstraksi secara bertingkat menunjukkan bahwa tidak adanya

zona hambat pada bakteri *E.coli*, *P. aeruginosa* pada jumlah ekstrak 0,5 mg, *S. aureus*, dan *C. maltosa* pada jumlah ekstrak sebesar 0,5 mg. Ekstrak metanol bintang laut yang diekstraksi secara bertingkat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. subtilis* yaitu pada jumlah ekstrak 0,5 mg mempunyai zona hambat 7 mm, dan pada bakteri *P. aeruginosa* dan *L. monocytogenes* pada jumlah ekstrak 1 mg mempunyai zona hambat berkisar antara 7 mm sampai 8 mm, serta pada bakteri *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, dan *C. maltosa* dengan jumlah ekstrak 2 mg mempunyai zona hambat yaitu berkisar antara 8 mm sampai 9 mm.

Ekstrak metanol bintang laut yang diekstraksi secara tunggal tidak mempunyai aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus* pada jumlah ekstrak sebesar 0,5 mg, dan *P. aeruginosa* pada jumlah ekstrak sebesar 0,5 mg, selain itu ekstrak metanol tunggal bintang laut tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap *C. maltosa*. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar bintang laut dengan pelarut metanol terlihat pada bakteri *B. subtilis* pada jumlah ekstrak 0,5 mg mempunyai zona hambat sebesar 7 mm dan *L. monocytogenes*, pada jumlah ekstrak 1 mg yaitu berkisar antara 7 mm sampai 8 mm, serta zona hambat pada jumlah ekstrak 2 mg yaitu berkisar antara 8 mm sampai 10 mm.

Aktivitas antimikrob ekstrak metanol bintang laut *C. schmideliana* memiliki hasil yang hampir sama dengan ekstrak metanol bintang laut *P. lincki*. Ekstrak metanol bintang laut *P. lincki* dapat menghambat mikrob *S. aureus* (2,01 mm), *B. subtilis* (4,23 mm), *Pseudomonas* sp. (3,15 mm), *E. coli* (2,06 mm), dan *C. albicans* (1,05 mm). Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sumur (Kumaran *et al.* 2011). Ekstrak metanol bintang laut *C. schmideliana* dan bintang laut *P. lincki* memiliki aktivitas antimikrob yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksana bintang laut *C. schmideliana* dan *P. lincki*.

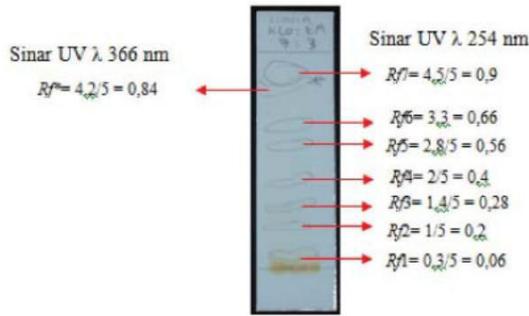
### Fraksi Ekstrak Terpilih dan Bioautografi

Profil pemisahan senyawa dengan eluen etil asetat: kloroform : asam format (3: 7: 0,05) disajikan pada Gambar 1. Hasil pengujian terhadap fraksi diduga bahwa masing-masing fraksi telah menunjukkan adanya 1 bercak dengan *Rf* yang berbeda. Pemisahan senyawa dengan eluen etil asetat: kloroform: asam format (3:7:0,05) menggunakan sinar UV  $\lambda$  254 nm diidentifikasi memiliki 7 bercak dengan nilai *Rf* 0,06; 0,2; 0,28; 0,4; 0,56; 0,66 dan 0,9 serta pengujian menggunakan sinar UV  $\lambda$  366 nm menghasilkan 1 bercak dengan nilai *Rf* sebesar 0,84 dari hasil ekstrak kasar etil asetat. Pengujian terhadap fraksi menggunakan KLT menghasilkan 8 bercak senyawa, namun hasil tersebut belum dapat diketahui golongan senyawa yang telah terpisah pada kromatogram. Hasil KLT dari ekstrak etil asetat bintang laut disemprot dengan pereaksi Dragendorff.

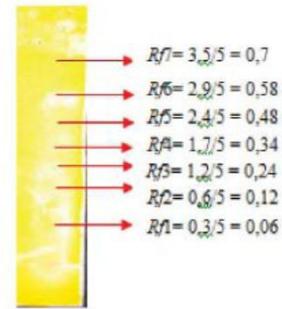
Profil penyemprotan ekstrak etil asetat dengan pereaksi Dragendorff disajikan pada Gambar 2. Fraksi pada kromatogram dengan *Rf* yang berbeda-beda sehingga memudahkan dalam pengamatan. Pemisahan senyawa tersebut memiliki 7 bercak dengan nilai *Rf* 0,06; 0,12; 0,24; 0,34; 0,48; 0,58 dan 0,7. Hasil penyemprotan ini menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid yang ditandai dengan munculnya bercak berwarna merah kecokelatan pada *Rf* 0,06; 0,12; 0,24; dan 0,34 serta bercak berwarna putih pada *Rf* 0,48,0,58; dan 0,7 selanjutnya nilai alkaloid ini akan dibandingkan dengan bioautogram untuk menentukan bercak yang aktif.

Kusumaningtyas *et al.* (2008) menyatakan bahwa angka *Rf* berkisar antara 0,001-1,0. Hasil KLT tersebut dijadikan acuan nilai *Rf* yang memberikan hasil positif pada bioautogram karena pada uji bioautografi bercak senyawa yang sudah terpisah tidak disemprot dengan pereaksi warna tetapi langsung diuji dengan mikrob uji. Acuan bercak juga dapat dilakukan dengan melihat bentuk pita hasil bioautografi yang telah memberikan hasil positif disesuaikan dengan hasil KLT yang telah menampilkan warna.

Bioautografi dilakukan pada ekstrak bintang laut yang memiliki aktivitas antibakteri



Gambar 6 Profil pemisahan senyawa dengan eluen etil asetat: kloroform: asam format (3: 7: 0,05).



Gambar 7 Profil penyemprotan dengan pereaksi Dragendorff.

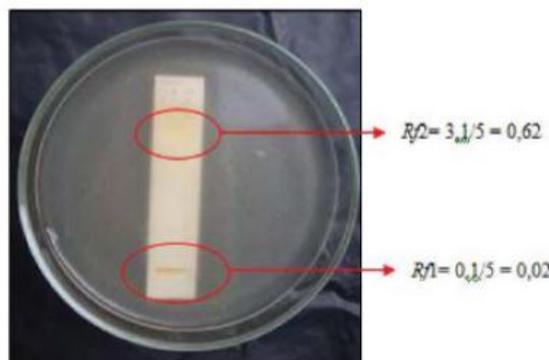
tertinggi, yaitu ekstrak etil asetat yang telah dilakukan pemisahan menggunakan KLT. Bakteri yang digunakan dalam bioautografi yaitu, *Bacillus subtilis*. Bakteri ini memiliki sensitivitas tertinggi pada uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan ekstrak etil asetat, hal ini terlihat pada zona hambat yang dihasilkan di sekitar bakteri uji. Profil bioautografi dsajikan pada Gambar 3.

Sudirman (2005) menyatakan bahwa bercak-bercak yang timbul pada kromatogram dengan  $Rf$  yang berbedadapatterdiriatassenyawa antimikrob dan senyawa lainnya. Bioautografi yang dilakukan terhadap kromatogram tersebut bertujuan untuk menentukan bercak yang merupakan senyawa antimikrob. Pengamatan terhadap bioautografi terhadap bakteri *B. subtilis* menghasilkan zona hambat sebesar 7 mm pada  $Rf = 0,02$  dan pada  $Rf = 0,62$  menghasilkan zona hambat sebesar 3 mm.

Metode bioautografi dapat mengetahui fraksi aktif yang terdapat pada ekstrak etil asetat. Hasil  $Rf1$  pada bioautografi yaitu 0,02 tidak sesuai dengan hasil  $Rf1$  pada penyemprotan ekstrak etil asetat dengan pereaksi Dragendorff yaitu 0,06. Hasil  $Rf2$  pada bioautografi yaitu 0,62 terletak pada  $Rf6$  dan  $Rf7$  pada penyemprotan ekstrak etil asetat dengan pereaksi Dragendorff yaitu 0,58 dan 0,7. Hasil bioautografi dan penyemprotan KLT dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan bahwa fraksi aktif yang terdapat pada bintang laut *C. schmideliana* ini kemungkinan bukan golongan alkaloid.

**KESIMPULAN**

Komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak bintang laut *C. schmideliana* dengan pelarut metanol antara lain alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan ninhidrin. Ekstrak



Gambar 8 Profil bioautografi.

n-heksana dan etil asetat *C. schmideliana* memiliki komponen bioaktif yaitu steroid dan saponin. Diameter zona hambat terbesar berasal dari ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 2 mg/sumur yaitu sebesar 16 mm. Pemisahan senyawa pada pengujian KLT menggunakan sinar UV  $\lambda$  254 nm diidentifikasi memiliki 7 bercak serta pengujian menggunakan sinar UV  $\lambda$  366 nm menghasilkan 1 bercak. Pengamatan bioautografi terhadap bakteri *B. subtilis* menghasilkan zona hambat sebesar 7 mm pada  $R_f = 0,02$  dan pada  $R_f = 0,62$  menghasilkan zona hambat sebesar 3 mm.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh College of Science and Biotechnology, Yonsei University, Republic of Korea.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar L, Mwangi C, Uku J, Ndirangu S. 2012. Antimicrobial activity of various extracts of the sea urchin *Tripneustes gratilla* (Echinoidea). *Journal of Pharmacology and Therapeutics* 1(1): 19-23.
- Chludil H, Maier MS, Seldes AM. 2000. Bioactive steroidal glycosides from starfish *Anasterias minuta*. *Molecules* 5: 352-353.
- Guo C, Tang X, Yang Y. 2009. Studies on the expectorant, antitussive and antiasthmatic properties of asterosaponin extracted from *Liquida quinaria*. *African Journal of Biotechnology* 8(23): 6694-6696.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia. Edisi kedua. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Heras DBL, Hortelano S. 2009. Molecular basic of the anti-inflammatory effect of terpenoids. *Inflammation and Allerg-Drug Targets* 8: 28-39.
- Iswani S. 2007. Proses preparasi ekstrak kasar (*Crude extract*) etanol dari makroalga untuk uji farmakologi. *Buletin Teknologi Penelitian Akuakultur* 6(1): 57-60.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-20. Nugroho E, Maulany RF, penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Kumaran NS, Bragadeeswaran S, Thangaraj. 2011. Antimicrobial activities in star fishes *Protoreaster lincki* (Blainville, 1830) and *Pentaceraster regulus* (Muller & Troschel, 1842) against isolated human, fish pathogenic and biofilm microorganisms. *Journal of Applied Sciences Research* 7 (6): 818-825.
- Kusumaningtyas E, Astuti E, Darmono. 2008. Sensitivitas metode bioautografi kontak dan agar overlay dalam penentuan senyawa antikapang. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 6(2): 75-79.
- Maier MS, Centurion R, Muniain C, Haddad R, Eberlin MN. 2007. Identification of sulfated steroidal glycoside from starfish *Heliaster helianthus* by electrospray ionization mass spectrometry. *Arkivoc* 7: 301-309.
- Moorthy K, Srinivasan K, Subramanian, Palaniswamy M, Mohanasundari C. 2007. Phytochemical screening and antibacterial evaluation of stem bark of *Mallotus philippinensis* var. *Tomentosus*. *African Journal of Biotechnology* 6(13): 1521-1523.
- Nurhayati T, Aryanti D, Nurjanah. 2009. Kajian awal potensi ekstrak spons sebagai antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional* 2: 43-51.
- Parthasarathy S, Azizi JB, Ramanathan S, Ismail S, Mansor SM, Sasidharan S, Said MIM. 2009. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. *Molecules* 14: 3964-3974.
- Pelczar S, Chan ECS. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Hadjoetomo et al., penerjemah. Jakarta: UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari kijang Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan.

- Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 119-132.
- Samuel P, Prince L, Prabakaran P. 2011. Ocean:the inviolated source of pharmaceutical leads and drug metabolites. *World Jurnal of Science and Technology* 1(10): 74-91.
- Sudirman LI. 2005. Deteksi senyawa antimikrob yang diisolasi dari beberapa *Lentinus* tropis dengan metode bioautografi. *Hayati* 12(2): 67-72.
- Tang HF, Yi HY, Li L, Sun Peng, Zhou DZ, Liu BS. 2005. Three new asterosaponins from the starfish *Culcita novaeguinae* and their bioactivity. *Planta Medica* 71: 458-463.
- Wang W, Li F, Hong J, Lee CO, Cho HY, Im KS, Jung JH. 2003. Four new saponins from the starfish *Certtonardoa semiregularis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 51(4): 435-439.
- Zheng L, Chen H, Han X, Lin W, Yan X. 2005. Antimicrobial screening and active compound isolation from marine bacterium NJ6-3-1 associated with the sponge *Hymeniacidon perleve*. *World Journal of Microorganism and Biotechnology* 21: 201-206.

