



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK KASAR ORGANOSPESIFIK  
*ACANTHASTER* DENGAN METODE *BRINE SHRIMP*  
*LETHALITY TEST (BSLT)***

**SKRIPSI**

**ZULFA HANIF  
0806453485**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK KASAR ORGANOSPESIFIK  
*ACANTHASTER* DENGAN METODE *BRINE SHRIMP*  
*LETHALITY TEST (BSLT)***

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

**ZULFA HANIF  
0806453485**

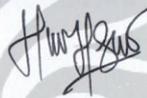
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan benar.**

**Nama : Zulfa Hanif**

**NPM : 0806453485**

**Tanda Tangan : **

**Tanggal : 9 Juli 2012**



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Zulfa Hanif  
NPM : 0806453485  
Program Studi : Biologi  
Judul Skripsi : Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Organospesifik *Acanthaster*  
dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. rer.nat. Yasman, M.Sc. (.....)

Penguji I : Dra. Setiorini, M.Kes. (.....)

Penguji II : Riani Widiarti, S.Si, M.Si. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur saya panjatkan atas segala rahmat dan nikmat yang Allah SWT. berikan kepada saya sehingga bisa menyelesaikan masa studi strata satu saya dengan baik. Saya sangat menyadari bahwa sepanjang perjalanan saya untuk menempuh masa pendidikan S1 ini tak lepas dari bantuan serta dukungan dari berbagai pihak, untuk saya ucapkan terimakasih kepada:

1. Pembimbing saya tercinta, Dr. rer.nat. Yasman, M.Sc, yang tak kenal lelah di tengah segala kesibukannya beliau tetap menyisihkan waktu nya untuk saya anak bimbingannya, dan kesabarannya dalam membimbing saya, terimakasih bapak.
2. Penguji saya Dra. Setiorini, M.Kes, yang juga selaku koordinator seminar dan Riani Widiarti, M.Si, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan ilmu-ilmu dan saran yang bermanfaat untuk saya.
3. Ketua departemen Biologi, Dr. rer. nat. Mufti P. Patria, M.Sc, sekretaris departemen Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc, Koordinator pendidikan Dra. Titi Soedjiarti, S.U. yang juga merupakan Penasehat Akademis saya, Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc., selaku koordinator seminar dan seluruh dosen Biologi FMIPA UI yang telah berjasa menyebarkan ilmu dan pesan moral yang berguna, tak lupa teruntuk para karyawan dan laboran departemen Biologi UI, mba Asri, pak Taryono, pak Taryana, mas Dedi, mas Arif, mba Ana. Terimakasih banyak.
4. Orang tua, kakak, serta adik yang sudah mempercayakan segala materi dan non material untuk menunjang pendidikan saya. Semoga kelulusan saya ini bisa menjadi kado yang terindah untuk kalian. Abi, Umi, ku persembahkan karya ku ini untuk kalian.
5. Partner penelitian saya Abdul Rahim, terimakasih atas suka dukanya dalam menjalani proses penggapaian gelar sarjana ini. Teman-teman yang telah membantu penelitian saya, untuk Yudi yanto (Bio08), Nuruma nurul malik (matematika 08), Nita Kurnia (Bio08), Diah (Bio08), Nala dan Tika (Farmasi 08), ka Ardi Septian (kimia 06), terimakasih banyak bantuannya. Tak lupa untuk Achmad Fachrurrozie, Dila M., M. R. Munzir dan

Indartono (bio 08) yang sudah bersedia meminjamkan barang-barang yang saya butuhkan selama penelitian makasih atas bantuannya. Keberadaan kalian semua membuat penelitian saya jauh terasa lebih ringan. Tak lupa untuk teman-teman Biosentris tercinta yang selalu menginspirasi dan smoga akan selalu menginspirasi. Tim penyemangat, Ria, Sentot, Faton, Jamal, Abas, Awatif, Diny, terimakasih kawan. Untuk para senior, ka Fuji (Bio06), ka Er-er (Bio07), ka Janu (Bio07), ka Bibil (Bio07), ka Lulu dan ka Wina (Bio07), terimakasih atas saran, nasehat serta bantuannya. Serta untuk adik-adikku tercinta, zygomorphic, B10genesis, dan Bio 2011.

6. Untuk pak Satibi, penduduk Pulau Pramuka Kepulauan Seribu, yang telah membantu penelitian saya.
7. Teruntuk pihak-pihak yang telah membantu, menyemangati, dan mendoakan saya dalam penelitian, saya ucapkan terimakasih dan mohon maaf apabila nama kalian tidak tercantum di dalamnya, bukan karena lupa, hanya saja nama kalian sudah tercantum di hati saya.

Semoga segala kebaikan dan bantuan dari saudara-saudara sekalian yang telah mengalir kepada saya selama saya menjalani perkuliahan di Biologi UI, akan menjadi pemberat amal kebaikan saudara-saudara kelak di akhirat. Aamiin.

Penulis

Juli 2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Zulfa Hanif  
NPM : 0806453485  
Program Studi : Biologi  
Departemen : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

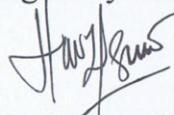
Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Organospesifik *Acanthaster* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 9 Juli 2012

Yang menyatakan



(Zulfa Hanif)

## ABSTRAK

Nama : Zulfa Hanif  
Program Studi : Biologi  
Judul : Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Organospesifik *Acanthaster* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

*Acanthaster* (Echinodermata) adalah biota yang diduga memiliki senyawa aktif dan berpotensi menjadi obat anti kanker. Penelitian bertujuan untuk mengukur tingkat toksisitas dari ekstrak kasar organospesifik *Acanthaster*. Uji toksisitas dilakukan pada bagian duri, kulit dan organ tubuh bagian dalam. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak kasar duri memiliki tingkat toksisitas tertinggi dibandingkan dengan kulit dan organ dalam dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 227.304 ppm, 483.150 ppm, dan 338.535 ppm. Hasil BSLT terhadap hasil fraksinasi ekstrak kasar duri menunjukkan nilai  $LC_{50}$  tertinggi dimiliki oleh fraksi n-heksan dengan nilai 276,586 ppm. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak duri dan kulit memiliki pola pemisahan bercak yang hampir sama, sedangkan ekstrak organ dalam berbeda. KLT fraksi menunjukkan pola fraksi n-heksan dan etil asetat hampir sama, sedangkan untuk fraksi air memiliki pola bercak yang berbeda.

Kata Kunci: *Acanthaster*, BSLT, ekstrak kasar, organospesifik, KLT

Xii + 44 halaman; 7 gambar; 4 tabel  
Daftar Acuan : 32 (1969--2012)

## ABSTRACT

Name : Zulfa Hanif  
Study Program : Biology  
Title : Toxicity Tests on Crude Extract of *Acanthaster* Organospecific  
by *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

*Acanthaster* (Echinoderm) seems to have active compounds which is potential for anti-cancer drugs. The study aims to measure the toxicity level of *Acanthaster* organospecific crude extract, namely thorns, skin and internal organs. Toxicity tests were conducted by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) methods. BSLT test results showed that the level of toxicity thorns crude extract has the highest than skin and internal organs crude extract (227,304 ppm, 483,150 ppm, and 338,535 ppm respectively). Fractionation was done to separate the toxic compounds. The results of fractionation BSLT showed that fraction of n-hexane has the highest  $LC_{50}$  (276,586 ppm). TLC results showed that crude extract of thorns and skin have the same separation patterns spots, while the extracts of internal organs have a different pattern. TLC fraction showed a similarity pattern between n-hexane fraction and ethyl acetate, meanwhile the water fraction has a different pattern.

Key Words: *Acanthaster*, BSLT, crude extract, organospecific, TLC

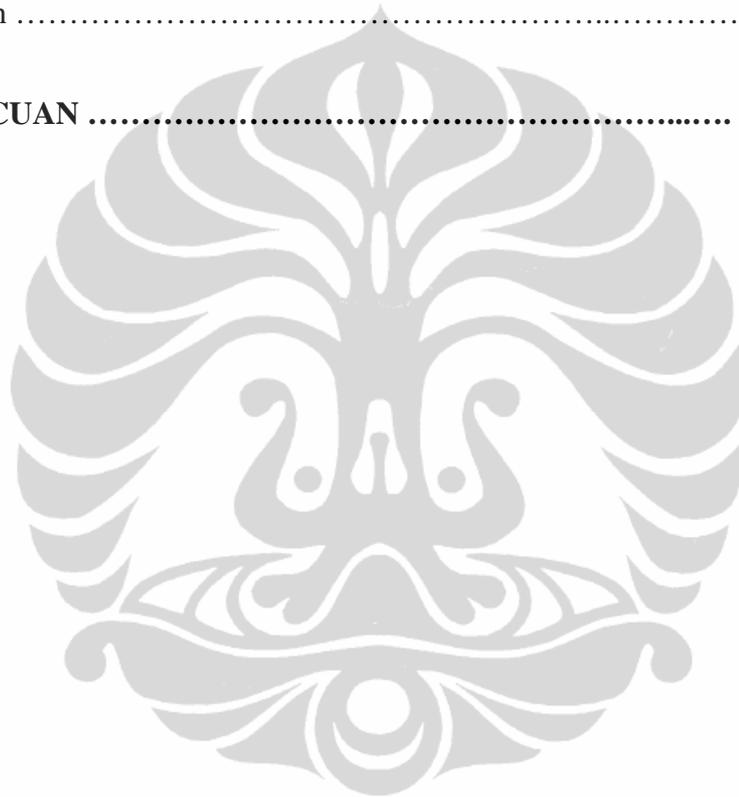
Xii + 44 pages; 7 pictures; 4 tables

Bibliography : 32 (1969--2012)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Biologi <i>Acanthaster</i> .....	4
2.1.1 Morfologi dan Anatomi <i>Acanthaster</i> .....	4
2.1.2 Tingkah Laku .....	6
2.1.3 Senyawa Aktif pada <i>Acanthaster</i> .....	8
2.2 Bioassay .....	9
2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi .....	10
2.3.1 Ekstraksi .....	10
2.3.1.1 Ekstraksi Cara Dingin .....	10
2.3.1.2 Ekstraksi Cara Panas .....	11
2.3.2 Fraksinasi .....	11
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>12</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	12
3.2 Bahan .....	12
3.3 Alat .....	12
3.4 Cara Kerja .....	13
3.4.1 Perlakuan Sampel .....	13
3.4.2 Ekstraksi .....	13
3.4.3 Pembuatan Konsentrasi Larutan Tahap I .....	14
3.4.4 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) Tahap I .....	14
3.4.5 Kromatografi Cair-Cair .....	15
3.4.6 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) Tahap II .....	16
3.4.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	16

<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>18</b>
4.1 Hasil .....	18
4.1.1 Ekstraksi .....	18
4.1.2 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) Tahap I .....	19
4.1.3 Fraksinasi .....	20
4.1.4 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) Tahap II .....	21
4.1.5 Kromatografi Lapis Tipis .....	21
4.3 Pembahasan .....	23
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>28</b>
5.1 Kesimpulan .....	28
5.2 Saran .....	28
<b>DAFTAR ACUAN .....</b>	<b>29</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1(1)	<i>Acanthaster</i> .....	5
Gambar 2.1.1(2)	Struktur tubuh bintang laut .....	6
Gambar 2.1.3	Struktur <i>sulfated steroidal glycosides</i> .....	9
Gambar 4.1.1	Ekstrak kasar bagian tubuh <i>Acanthaster</i> .....	19
Gambar 4.1.3	Hasil fraksi yang sudah diuapkan dan dioven .....	21
Gambar 4.1.5(1)	Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak .....	22
Gambar 4.1.5(2)	Pelat Kromatografi TLC hasil fraksinasi ekstrak kasar duri .....	23

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.1(1)	Perbandingan berat basah, berat kering dan persentase ekstrak kasar bagian tubuh <i>Acanthaste</i> .....	18
Tabel 4.1.1(2)	Perbandingan organoleptis ekstrak kasar bagian tubuh <i>Acanthaster</i> .....	19
Tabel 4.1.3(1)	Perbandingan berat serta persentase rendemen dari tiap fraksi .....	20
Tabel 4.1.3(2)	Perbandingan warna dan tekstur setiap fraksi .....	20

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil pengamatan BSLT tahap I .....	33
Lampiran 2	Hasil pengamatan BSLT tahap I.....	35
Lampiran 3	Hasil analisa probit BSLT tahap I .....	37
Lampiran 4	Hasil analisa probit BSLT tahap II .....	41
Lampiran 5	Standar warna <i>ACE PAINT</i> .....	45

## BAB 1 PENDAHULUAN

Echinodermata merupakan salah satu komponen penting dalam rantai makanan ekosistem terumbu karang, karena biota tersebut umumnya berperan sebagai predator dan pemakan detritus. Salah satu contoh Echinodermata predator pada ekosistem terumbu karang adalah *Acanthaster* atau bintang laut mahkota duri yang merupakan pemangsa polip karang (Yusron 2009: 48).

Keberadaan *Acanthaster* dalam kondisi yang normal sesungguhnya tidak terlalu mengganggu ekosistem dari terumbu karang, karena hewan tersebut hanya memakan sebagian dari koloni karang tertentu, sehingga terumbu karang dapat pulih kembali. *Acanthaster* akan sangat mengganggu apabila pada ekosistem tersebut terjadi ledakan populasi atau *outbreak* dari hewan tersebut. Permintaan karang sebagai makanan *Acanthaster* pada saat populasi *Acanthaster* meledak akan menyebabkan terjadinya kompetisi antar individu *Acanthaster* untuk mendapatkan makanan. Hal tersebut menyebabkan tak hanya jenis karang tertentu saja yang dimakan, tetapi berbagai jenis karang yang lain juga dimakan. Ledakan populasi *Acanthaster* dapat mengurangi persen tutupan karang hidup dari yang sebelumnya 25--40% menjadi kurang dari 1%. Hal tersebut menyebabkan semakin banyak waktu yang dibutuhkan untuk terumbu karang tersebut untuk pulih kembali, bahkan lebih dari 10 tahun (Coremap 2004: 1).

Ledakan populasi *Acanthaster* tidak hanya merugikan bagi terumbu karang saja, namun akan memberikan efek bagi makhluk hidup yang lain seperti hilangnya sumber hayati laut. Berdasarkan studi literatur, terdapat sekitar 100.000 jenis mewakili 94% filum yang ada di dunia, terdokumentasikan hidup di terumbu karang. Kerusakan tersebut juga bisa berdampak pada ekowisata yang akhirnya berimbas pada perekonomian masyarakat sekitar. Kerusakan juga dapat merubah komunitas karang itu sendiri (Budiyanto 2002: 17; Edwards & Gomez 2008: 1).

Ada beberapa hal yang dapat menjelaskan fenomena terjadinya ledakan populasi dari *Acanthaster*. Hal pertama adalah ledakan populasi *Acanthaster* terjadi karena hilangnya predator, sementara di sisi lain *Acanthaster* memiliki kemampuan untuk menghasilkan telur dalam jumlah besar. Penjelasan kedua

adalah fluktuasi populasi *Acanthaster* juga dapat terjadi secara alami, karena adanya perubahan suhu dan salinitas air laut (Coremap 2004: 1; Rani *dkk.* 2007: 1). Hal lain yang dapat memicu terjadinya ledakan populasi hewan tersebut karena adanya peningkatan nutrisi yang dapat meningkatkan ketahanan larva *Acanthaster* (Brodie *dkk.* 2004: 9).

Ledakan populasi *Acanthaster* diduga pertama kali terjadi pada 300--700 tahun lalu di Great Barrier Reef Australia, dengan ditemukannya spikula dari hewan tersebut. Beberapa upaya penanganan terhadap terjadinya ledakan populasi hewan tersebut sudah diusulkan, di antaranya penggunaan racun atau diambil secara manual menggunakan tombak (ditusuk secara manual) dan penjepit, lalu dikubur atau dibunuh di tepi pantai (Coremap 2004: 1; Fraser *dkk.* 2001: 19).

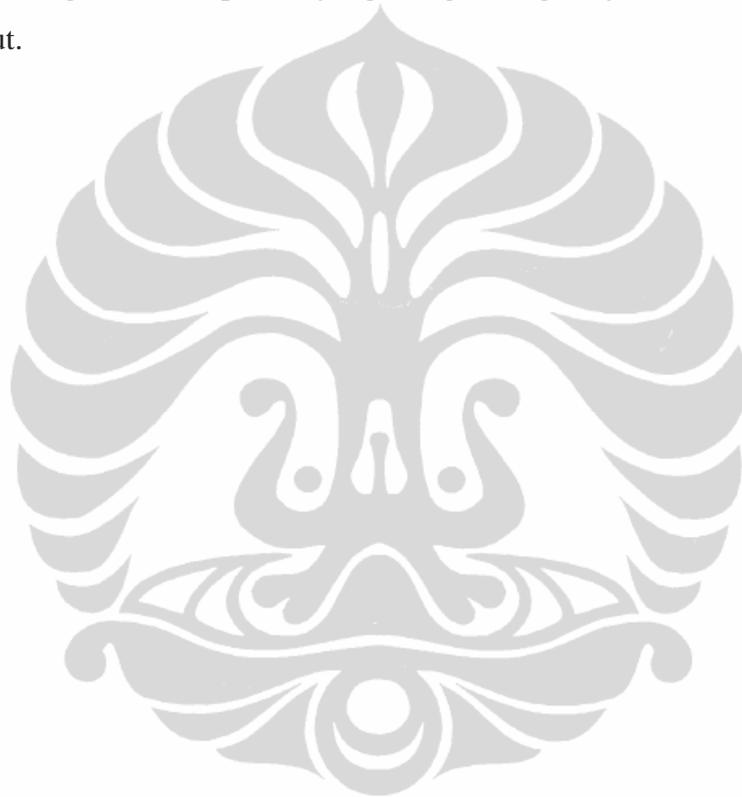
Penanganan tersebut cukup disayangkan, karena dari beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya mengenai hewan tersebut, diketahui bahwa *Acanthaster* memiliki kandungan senyawa yang berpotensi untuk bisa dimanfaatkan. Asterosaponin yang merupakan senyawa khas terkandung dalam *Acanthaster* memiliki bioaktivitas yang mampu dimanfaatkan sebagai bahan dasar obat (Maier *dkk.* 2007: 32).

Penelitian pemanfaatan *Acanthaster* untuk potensi anti kanker pernah dilakukan. Salah satunya adalah penelitian yang dilakukan Mutee *dkk.* (2012) yang melaporkan bahwa enzim yang terdapat pada *Acanthaster* mampu memicu apoptosis sel kanker pada manusia, namun penelitian pemanfaatan yang menggunakan metabolit sekunder *Acanthaster* sebagai potensi anti kanker belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian awal mengenai potensi ekstrak metabolit sekunder *Acanthaster* untuk anti kanker.

Penelitian mengenai *Acanthaster* tidak sulit untuk ditemukan, namun literatur mengenai detail organ tubuh penghasil metabolit sekunder dan tingkat toksisitasnya dari hewan tersebut masih belum banyak. Studi literatur yang dilakukan oleh Setyastuti (2009), menyebutkan bahwa *Acanthaster* mampu mengeluarkan neurotoksin yang terletak pada bagian durinya, sedangkan menurut Fraser *dkk.* (2001), semua jaringan lunak dari *Acanthaster* dapat menghasilkan senyawa kimia beracun. Penelitian tersebut tidak menyebutkan bagian tubuh

mana yang memiliki tingkat toksisitas tertinggi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai perbedaan tingkat toksisitas metabolit sekunder *Acanthaster* yang terdapat pada duri, kulit, dan organ dalam untuk memberikan informasi mengenai organ spesifik *Acanthaster* yang mempunyai aktivitas toksisitas tertinggi.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak kasar *Acanthaster* sebagai bahan aktif antikanker melalui uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dan mengetahui bagian tubuh spesifik yang mengandung senyawa toksik pada hewan tersebut.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *Acanthaster*

#### 2.1.1 Morfologi dan Anatomi *Acanthaster*

Genus *Acanthaster* merupakan hewan yang termasuk dalam filum Echinodermata, yakni hewan berkulit duri (Gambar 2.1.1(1)). Ada tiga *spesies* yang masuk ke dalam genus *Acanthaster*, yakni *Acanthaster ellisi*, *Acanthaster bervipinnus*, dan *Acanthaster planci*. Genus *Acanthaster* pertama kali di deksripsikan tahun 1841 oleh Gervais, dan dilaporkan pertama kali oleh George Rumphius dengan contoh hewan yang digunakan berasal dari Indonesia tahun 1705. Taksonomi dari *Acanthaster* secara lengkap adalah sebagai berikut (Setyastuti 2009: 17--18):

Kingdom : *Animalia*  
Phylum : *Echinodermata*  
Class : *Asteroidea*  
Ordo : *Valvatida*  
Family : *Acanthasteridae*  
Genus : *Acanthaster* (Gervais, 1841).

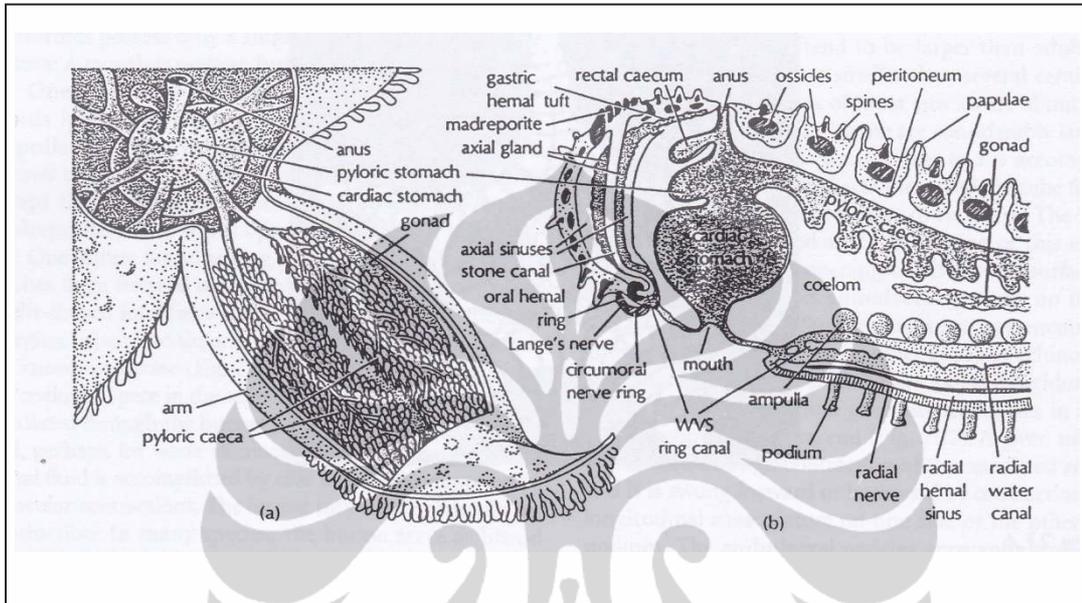


Gambar 2.1.1(1). *Acanthaster*  
[Sumber: Dokumentasi Pribadi.]

Struktur tubuh *Acanthaster* sama dengan struktur umum dari Asteroidea, yaitu badan dengan simetri radial dan memiliki banyak lengan. Sistem organ seperti pencernaan dan reproduksinya melebar hingga ke lengannya pada bagian *perivisceral coelom*. Tubuhnya bersumbu oral dan aboral, dengan kaki ambulakral pada bagian permukaan oralnya, serta madreporit dan anus pada bagian aboral. *Acanthaster* juga memiliki sejumlah pasang duri yang disebut *pedicellaria* yang berfungsi untuk membersihkan permukaan tubuh bagian atas. Selain itu, juga ditemukan *papulae* berbentuk kantung-kantung kecil pada permukaan tubuh yang berfungsi sebagai alat pernapasan dan sirkulasi air. Hewan tersebut juga memiliki tentakel-tentakel sensor yang bergerak untuk mendeteksi sinyal-sinyal kimiawi. Struktur tersebut terletak pada bagian ujung lengan berwarna merah muda dan dikelilingi kaki tabung khusus. Salah satu yang unik dari *Acanthaster* adalah kemampuan regenerasinya, yaitu mampu meregenerasikan lengan-lengannya begitu juga bagian tubuh lainnya apabila terpotong (Fraser *dkk.* 2001: 2; Arnold & Birtles 1989: 191).

*Acanthaster* memiliki ciri khas khusus yang membedakannya dengan Asteroidea lain. *Acanthaster* biasanya memiliki lengan yang lebih banyak dibandingkan dengan bintang laut lainnya, jumlahnya berkisar antara 7--23 buah. Selain itu, *Acanthaster* memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dibandingkan

dengan bintang laut lainnya, yakni sekitar 30--40 cm, dan mampu terus tumbuh hingga 70 cm. Ciri khas lainnya adalah duri yang ada pada tubuhnya. Asteroidea lainnya juga memiliki duri, namun duri pada *Acanthaster* jauh lebih panjang, tajam, dan beracun (Gambar 2.1.1(2))(Fraser dkk. 2001: 1).



Gambar 2.1.1(2). Struktur tubuh bintang laut  
[sumber : Pechenik 1996: 454]

### 2.1.2 Tingkah Laku

*Acanthaster* merupakan hewan yang menyukai habitat sublitoral dan sering kali bersembunyi sepanjang hari di bawah koloni karang. Hewan tersebut biasa dijumpai di antara puncak karang dalam laguna atau daerah lereng terumbu, karena tempat tersebut memiliki temperatur yang nyaman bagi hewan tersebut, yakni berkisar antara 28--29°C (Budiyanto 2002: 17).

*Acanthaster* adalah hewan pemakan polip karang. Genus karang yang biasanya dimangsa hewan tersebut adalah *Acropora* dan *Montipora*, namun pada saat tertentu *Acanthaster* dapat memakan alga. *Acanthaster* memiliki cara makan yang khas. Hewan tersebut akan mengeluarkan lambungnya melalui mulut. Lambung *Acanthaster* akan menutupi permukaan koloni karang, lalu akan mengeluarkan suatu enzim yang dapat mencerna makanannya. Oleh karena itu,

*Acanthaster* membutuhkan waktu yang cukup lama untuk memakan makanannya. *Acanthaster* biasanya hanya makan sekali atau dua kali dalam sehari, namun *Acanthaster* mampu menghabiskan suatu luasan sekitar 5--13 m<sup>2</sup> karang per tahun (Budiyanto 2002: 18; Fraser *dkk.* 2001: 4).

*Acanthaster* merupakan hewan yang pergerakannya lambat, dengan kecepatan bergerak rata-rata 10 cm per menit. Pergerakan *Acanthaster* menggunakan kaki tabung yang terletak di bagian bawah lengan. Kaki tabung tersebut akan bergerak maju dan menempel pada substrat dengan penghisapnya, lalu akan dilepas dengan cara mengendurkannya kemudian menariknya agar bisa maju ke depan (Fraser *dkk.* 2001: 2).

*Acanthaster* adalah hewan yang aktif di malam hari dan akan menghabiskan waktunya untuk bersembunyi di bagian bawah karang selama siang hari. Tingkah laku tersebut akan berubah pada saat terjadi ledakan populasi *Acanthaster*. *Acanthaster* akan berkompetisi untuk mendapatkan makanan, sehingga akan aktif siang dan malam untuk mencari makanan. Inilah yang menyebabkan kerugian bagi karang hidup, tidak ada predator karang yang pernah dilaporkan secara nyata mampu merusak terumbu karang dalam waktu pendek selain *Acanthaster*. Contohnya, lebih dari 80% karang hidup di Kepulauan Togean, Sulawesi Tengah dirusak oleh hewan tersebut dalam waktu beberapa bulan saja (Fraser *dkk.* 2001: 4).

*Acanthaster* merupakan hewan predator bagi karang, namun bukan berarti hewan tersebut tak memiliki predator bagi dirinya. Ikan napoleon merupakan salah satu predator *Acanthaster*, ikan napoleon diyakini aktif mengkonsumsi telur dari *Acanthaster*, jadi jika jumlah populasi ikan napoleon berkurang, habitat terumbu karang diduga akan mengalami ledakan populasi *Acanthaster*, maka dari itu ikan napoleon dapat dinyatakan sebagai spesies kunci (Wiadnya 2011: 4). Ikan kerapu, ikan trigger, triton raksasa, dan udang warna (*Hymeno cerapicta*) pernah diamati juga memangsa *Acanthaster* sebagai makanannya (Fraser *dkk.* 2001: 8).

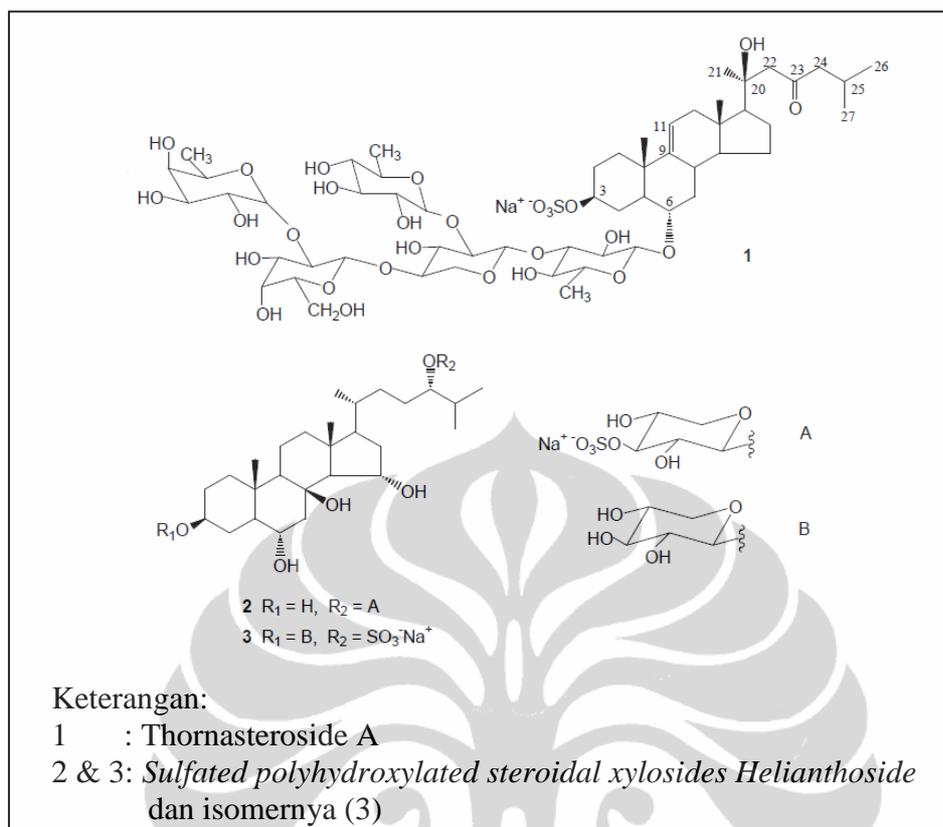
Selama proses memakan karang, *Acanthaster* akan mudah diserang oleh predatornya. Untuk itu, *Acanthaster* dilengkapi pertahanan tubuh untuk melindungi dirinya. *Acanthaster* merupakan hewan nokturnal, sehingga pada

siang hari hewan tersebut lebih memilih untuk bersembunyi di antara karang untuk menghindari predatornya. Pada bagian permukaan aboral *Acanthaster*, tepatnya pada bagian cakram dan lengannya, dilapisi oleh kulit yang lembut dan berduri tajam yang membuat predatornya terluka jika tertusuk. Bentuk pertahanan lain yang dimiliki *Acanthaster*, yakni durinya yang dilapisi oleh kulit tipis yang mengandung dua tipe kelenjar yang mampu memproduksi racun dan mukus. Racun tersebut juga dapat menyebabkan rasa sakit (Madl 2002: 1).

Jaringan pada tubuh *Acanthaster* juga mengandung senyawa saponin yang merupakan bagian dari kelompok *natural steroids*. Saponin memiliki rasa yang tidak enak, sehingga akan menghilangkan nafsu makan dari predatornya. Keberadaan saponin dalam tubuh *Acanthaster* bukan untuk meracuni predatornya melainkan hanya untuk memperkecil peluang kehadiran predator (Firth 1969: 64; Fraser *dkk.* 2001: 4).

### 2.1.3 Senyawa Aktif pada *Acanthaster*

Metabolit sekunder yang khas bagi Asteroidea adalah steroid glikosida (Gambar 2.1.3). Asteroidea mengandung dua grup struktural dari steroid glikosida yaitu asterosaponin dan *glycosylated polyhydroxysteroids*. Asterosaponin merupakan steroid oligoglikosida yang mengandung 3-O-sulfated  $\Delta$ -3 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihydroxysteroid aglycons dan rantai karbohidrat dengan lima atau enam gula yang terikat pada C-6. Diduga asterosaponin tersebut dapat berguna untuk melindungi Asteroidea dari ikan predatornya. Asterosaponin memiliki diversitas bentuk senyawa yang cukup tinggi dengan berbagai macam variasi dari steroidal mono- dan diglikosida dan sulfated polyhydroxysteroids yang merupakan campuran kompleks dengan senyawa oksigenasi yang tinggi. Hal tersebut membuat asterosaponin memiliki aktivitas biologis yang cukup luas, diantaranya kemampuan asterosaponin untuk menghambat proliferasi sel tumor, mengaktivasi polimerisasi tubulin, dan bereaksi dengan kanal sodium. Selain itu, asterosaponin juga diketahui memiliki bioaktivitas antifungal, sitotoksik, hemolitik, sitostatik, dan aktivitas immunomodulatori (Ivanchina *dkk.* 2011: 432--433; Maier *dkk.* 2007: 302).



Gambar 2.1.3. Struktur *sulfated steroidal glycosides*  
[Sumber: Maier dkk. 2007: 302.]

## 2.2 Bioassay

Bioassay merupakan suatu uji yang menggunakan organisme hidup untuk mengetahui efektifitas suatu bahan hidup ataupun bahan organik dan anorganik terhadap suatu organisme hidup. Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi, oleh karena itu, daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan uji dapat digunakan untuk menapis ekstrak biota yang mempunyai bioaktivitas dan juga memonitor fraksi bioaktif selama fraksinasi dan pemurnian (Munifah dkk. 2008:7).

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode *Bioassay* yang menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Metode tersebut merupakan metode yang banyak digunakan sebagai langkah awal pencarian senyawa anti kanker baru. Hasil uji toksisitas dengan metode

tersebut telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksis senyawa anti kanker. Keuntungan dari metode tersebut diantaranya mudah dilakukan, cepat, mudah diperbanyak, dan dapat menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik anti kanker (Nurhayati *dkk.* 2006: 41).

## 2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi

### 2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari simplisia menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi terdiri dari dua macam cara, yakni cara dingin dan cara panas (Asean Countries 1993: 544).

#### 2.3.1.1 Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin terdiri dari dua cara, yakni perkolasi dan maserasi. Perkolasi merupakan proses ekstraksi sampel dengan selalu menggunakan pelarut baru dan dilakukan pada temperatur kamar (Depkes RI 2000: 12--13). Sedangkan, maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan metode pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Dengan adanya perbedaan tekanan yang ditimbulkan pada proses maserasi tersebut, membran sel dari simplisia akan pecah, sehingga senyawa aktif yang terdapat di dalamnya akan keluar (Darwis 2006:15--16). Ekstraksi maserasi dapat dilakukan dengan bantuan gelombang mikro. Energi gelombang mikro dengan frekuensi 2.450 MHz dapat menyebabkan pergerakan molekul, namun tidak merubah struktur molekulnya. Selain itu, dapat juga menggunakan metode sonikasi, dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik berfrekuensi 42 KHz, sehingga dapat mempercepat proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari sel ke pelarut.

### 2.3.1.2 Ekstraksi Cara Panas

Ekstraksi cara panas terdiri dari berbagai cara, diantaranya refluks dan infus. Refluks merupakan proses ekstraksi dimana pelarut yang digunakan berada pada temperatur titik didihnya selama kurun waktu tertentu (Depkes RI 2000:12--13), sedangkan infus merupakan ekstraksi menggunakan pelarut air pada suhu penangas air selama 15 menit.

### 2.3.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan fraksi yang terkandung dalam suatu larutan atau suspensi yang mempunyai karakteristik berbeda. Proses pemisahan fraksi-fraksi sangat ditentukan oleh jenis pelarut dan senyawa pengompleks yang digunakan. Fraksinasi biasanya menggunakan metode kromatografi. Kromatografi merupakan cara pemisahan suatu sampel atau senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Pada kromatografi, komponen-komponennya akan dipisahkan antara dua buah fase, yaitu fase diam dan fase bergerak. Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan lebih cepat bergerak (Yuliasih *dkk* 2007: 29).

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu contoh kromatografi. Fase diam pada kromatografi lapis tipis berupa lapisan tipis silika gel. Lapisan tersebut biasanya berfungsi sebagai permukaan padat yang menyerap larutan. Data yang diberikan dari metoda kromatografi lapis tipis tersebut berupa nilai  $R_f$  (*Retardation factor*), yakni jarak tempuh suatu senyawa pada pelat dibagi dengan jarak tempuh larutan pengembang (Gritter *dkk*. 1991: 5--8).

## **BAB 3 METODOLOGI**

### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di laboratorium Taksonomi Hewan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok. Penelitian dimulai dari bulan Februari--Mei 2012.

### **3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *Acanthaster* yang dikoleksi dari perairan Taman Nasional Kepulauan Seribu Jakarta, metanol, n-heksan, etil asetat, anesal dehidra, asam asetat glasial, dikloro metan (DCM), akuades, air laut komersial, dimetil sulfosit (DMSO), telur *brine shrimp* (*Artemia salina*) komersial, kertas saring Whatman No 1, kertas label, kertas alumunium, tissue, pelat kromatografi lapis tipis (KLT), standar warna *ACE PAINT*.

### **3.3 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah timbangan digital [Ohaus GT 4000], *blender* [WARING], *rotary evaporator* [Boeco ika rv 05], corong pisah, baki plastik, gelas ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, *Beaker glass* 1000 ml, labu penguap, pipet tetes, botol semprot, pipet volumetrik, karet penghisap, botol vial 10 ml, cawan penguap, pinset, pisau, sarung tangan, gunting, sendok, masker, *aerator* [Vossov-3000], mikroskop, lampu UV, spatula.

### 3.4 Cara Kerja

#### 3.4.1 Perlakuan Sampel

Sampel *Acanthaster* dikoleksi dari Pulau Pramuka Kepulauan Seribu, Jakarta. Sebelum sampel diekstraksi, sampel diamati karakteristik morfologinya, seperti warna, jumlah lengan dan diameter tubuhnya. Sampel dibagi menjadi tiga bagian, yaitu bagian duri, tubuh bagian dalam, dan bagian kulitnya. Setiap bagian dimasukkan ke dalam toples kaca, lalu dituangkan metanol hingga semua bagian sampel terendam.

#### 3.4.2 Ekstraksi

Sampel yang sudah dipisahkan menjadi tiga kelompok, masing-masing ditimbang menggunakan timbangan digital untuk mengetahui berat basahnya lalu dicatat. Setelah itu setiap kelompok ditambahkan metanol untuk diblender. Setelah sampel halus, sampel dimasukkan ke dalam gelas beaker ukuran 1 liter lalu dimaserasi dengan metanol selama 24 jam. Setelah 24 jam, filtrat disaring dengan kertas Whatman no 1. Residu yang masih tersisa dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama hingga beberapa kali, sampai filtrat yang dihasilkan tidak berwarna.

Filtrat yang didapat dimasukkan ke dalam labu penguap (*round flasks*), dan diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 90 rpm. Filtrat yang tidak dapat diuapkan lagi dengan evaporator selanjutnya dipindahkan ke dalam cawan penguap untuk diuapkan dalam oven dengan suhu 40°C hingga pelarut metanolnya hilang dan didapatkan *crude extract* tanpa pelarut. Warna sampel selanjutnya dibandingkan dengan warna standar. *Crude extract* selanjutnya ditimbang dan disimpan dalam botol berwarna gelap (Albuntana *dkk.* 2011: 66--68).

### 3.4.3 Pembuatan Konsentrasi Larutan Tahap 1

Pembuatan larutan dimulai dengan mengencerkan *crude extract* sebanyak 0,5 g dalam metanol hingga 50 ml. Larutan tersebut disebut larutan induk dengan nilai konsentrasi 10.000 µg/ml. Larutan tersebut juga digunakan sebagai larutan stok yang nantinya digunakan kembali untuk pembuatan larutan yang sama namun dengan konsentrasi yang berbeda. Dalam penelitian ini, konsentrasi larutan yang digunakan sebanyak 5 macam, yakni 1.000 ppm, 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, dan 100 ppm. Larutan 1.000 ppm dibuat dengan langsung memipet sebanyak 0,5 ml larutan induk 10.000 ppm ke dalam botol vial. Untuk larutan dengan konsentrasi 750 ppm dibuat larutan subinduk dengan memipet 3,75 ml larutan induk lalu ditambahkan metanol hingga 5 ml sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 7.500 ppm. Selanjutnya 0,5 ml larutan 7.500 ppm dimasukkan ke dalam botol vial, sehingga jika ditambahkan air laut hingga volume akhir 5 ml pada saat uji BSLT, konsentrasi yang didapatkan adalah 750 ppm. Hal yang sama dilakukan untuk membuat larutan dengan konsentrasi 500--100 ppm, namun berbeda jumlah volume larutan induk yang digunakan, untuk 500 ppm jumlah volume larutan induk yang digunakan sebanyak 2,5 ml dari larutan induk, dan 1,25 ml dari larutan induk untuk 250 ppm, dan 0,5 ml larutan induk untuk 100 ppm. Kontrol percobaan dibuat dengan mengisi botol vial kosong dengan pelarut metanol sebanyak 0,5 ml. Semua botol vial uji dengan berbagai konsentrasi dan kontrol dikeringkan menggunakan oven. Ekstrak kasar ditimbang setiap harinya untuk memastikan bahwa kandungan metanol dalam ekstrak kasar sudah tidak ada, hingga hasil timbangan menunjukkan berat yang stabil. (Albuntana *dkk* 2011: 66 -- 68).

### 3.4.4 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Tahap I

Pada uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) setiap botol vial yang telah dimasukkan *crude extract* dan dikeringkan, ditambahkan air laut hingga volume akhir 5 ml, sehingga akan didapatkan konsentrasi akhir 1.000 ppm, 750 ppm, 500

ppm, 250 ppm, dan 100 ppm. Percobaan dilakukan tiga kali pengulangan (triplo) untuk setiap konsentrasi dan kontrol.

Uji *Brine shrimp lethality test* (BSLT) dimulai dengan menetasakan telur *brine shrimp* (*Artemia salina*) pada *Beaker glass* berisi air laut yang diaerasi. Telur mulai menetas setelah 24 jam dan akan bergerak aktif setelah berumur 36--48 jam. Umur *Artemia* 48 jam tersebut dikenal sebagai nauplii *Artemia salina* yang digunakan pada uji BSLT.

Botol vial uji dan kontrol yang sebelumnya telah dikeringkan, kemudian ditambahkan dengan DMSO 30  $\mu$ l untuk melarutkan *crude extract* pada botol vial. Setelah *crude extract* larut, botol vial ditambahkan 2 ml air laut. 10 nauplii *Artemia salina* selanjutnya dimasukkan ke dalam botol uji dan ditambahkan air laut hingga volume akhir 5 ml. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah nauplii dimasukkan ke botol uji. Jumlah larva yang mati dicatat pada setiap konsentrasi larutan dan kontrol. Persentasi kematian dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah kematian nauplii uji} - \text{Jumlah kematian nauplii kontrol}}{\text{Jumlah nauplii awal}} \times 100\%$$

Perhitungan  $LC_{50}$  menggunakan bantuan program SPSS 16. Program tersebut juga dapat memperlihatkan kurva estimasi antara hubungan nilai konsentrasi dan nilai probit. Ekstrak dapat dikatakan bersifat aktif apabila nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh  $\leq 1000$  ppm (Montanher *dkk.* 2002: 177).

#### 3.4.5 Kromatografi Cair-Cair

Ekstrak yang bersifat aktif dengan nilai  $LC_{50} \leq 1000$  ppm dilanjutkan ke dalam tahap selanjutnya yakni tahap fraksinasi dengan kromatografi cair-cair. Ekstrak tersebut dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 ml, lalu dimasukkan ke dalam corong pisah berukuran 500 ml. Heksan dimasukkan ke dalam corong pisah sebanyak volume akuades yang dimasukkan sebelumnya. Campuran tersebut selanjutnya dikocok hingga membentuk emulsi. Sesekali tutup corong pisah dibuka agar gas yang terbentuk di dalamnya terbuang. Kemudian larutan

didiamkan hingga terbentuk dua lapisan fase berbeda yaitu air dan n-heksan. Fraksi air yang terdapat pada lapisan bawah ditampung di *round flasks* (labu penguap). Selanjutnya, fraksi heksan dipipet dan ditampung di *round flasks* lainnya. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3--5 kali hingga larutan n-heksan tidak berwarna.

Fraksi air kembali dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditambahkan etil asetat sebanyak 100 ml. Fraksinasi etil asetat-air dilakukan dengan cara yang sama seperti fraksi air dengan n-heksan. Hasil fraksinasi dari ketiga larutan berbeda tersebut kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* dan dilanjutkan dalam oven dengan suhu 40°C. Selanjutnya fraksi *crude extract* yang didapat ditimbang dan disimpan dalam botol berwarna gelap (Albuntana *dkk.* 2011: 66 -- 68).

#### 3.4.6 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Tahap II

Uji BSLT tahap II dilakukan dengan proses pengerjaan yang sama dengan uji BSLT tahap I. Konsentrasi yang digunakan juga sama, namun pelarut yang digunakan berbeda. Pada BSLT tahap II, pelarut yang digunakan disesuaikan dengan pelarut yang digunakan pada fraksinasi ekstrak sebelumnya (n-heksan dan etil asetat). Pelarut air yang sebelumnya digunakan pada tahap fraksinasi tidak digunakan kembali pada uji BSLT tahap II tetapi diganti dengan metanol agar ekstrak lebih cepat kering (Albuntana *dkk.* 2011: 66 -- 68).

#### 3.4.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

*Crude extract* dan setiap fraksi hasil fraksinasi diuji dengan kromatografi lapis tipis. Setiap *crude extract* dan fraksi hasil fraksinasi dibuat ke dalam konsentrasi 10.000 ppm. Pelat KLT berukuran 8 x 3,5 cm dengan batas bawah 1 cm dan batas atas 0,5 cm yang sudah dimasukkan ke dalam oven kurang lebih selama 15--60 menit, ditotolkan dengan larutan *crude extract* masing-masing fraksi menggunakan pipa kapiler. Kemudian pelat KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang berisi eluen (DCM:N-heksan:Asam asetat/7:2:1), lalu

ditutup dan dibiarkan beberapa menit pada suhu ruang hingga eluen mencapai garis akhir. Setelah itu pelat KLT disemprot dengan reagen anesaldehid dan dipanaskan pada suhu 110°C di atas *hot plate*. Bercak pemisahan ekstrak yang dihasilkan lalu diamati (Albuntana *dkk.* 2011: 66--68).



## BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Ekstraksi

Sampel yang digunakan sebanyak lima ekor dengan diameter sekitar 25--30 cm, berwarna biru, memiliki lengan berjumlah 14--16 buah dan memiliki duri merah atau jingga di bagian aboral tubuhnya. Sampel dipotong menurut bagian-bagian tubuh yang akan diteliti yakni, bagian duri, kulit, dan viscera (organ dalam). Hasil ekstraksi menunjukkan ekstrak yang dihasilkan untuk organ dalam sebesar 19,5 g dari berat basah 840,4 g (2,03%), sedangkan untuk ekstrak duri dihasilkan 7,6 g dari berat basah 243,8 g (3,11%), ekstrak kulit dihasilkan 15,6 g dari berat basah 447,4 g (3,48%) (Tabel 4.1.1(1)).

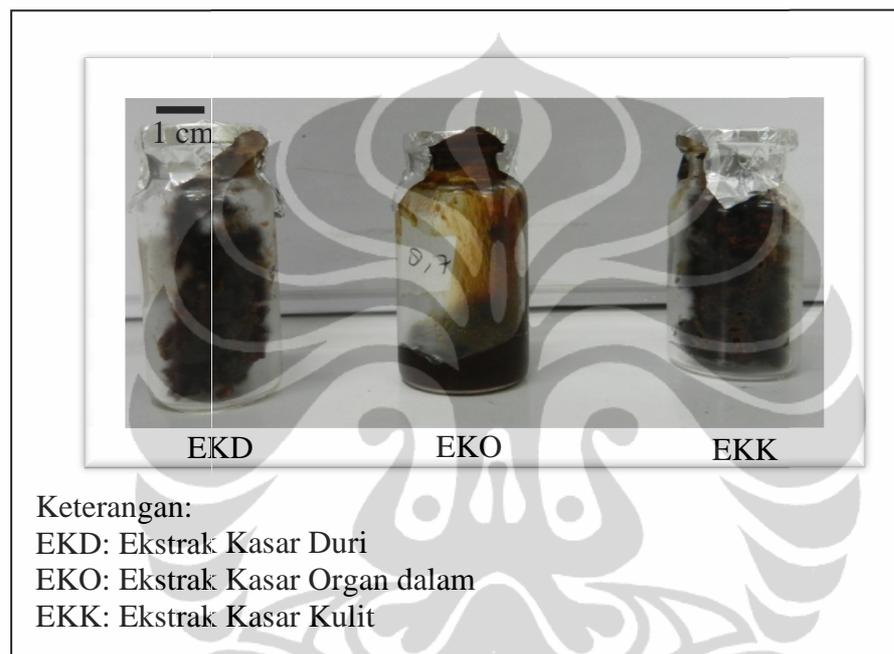
Tabel 4.1.1(1). Perbandingan berat basah, berat kering dan persentase ekstrak kasar bagian tubuh *Acanthaster*

No	Bagian Tubuh	Berat Basah (g)	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
1	Duri	243,8	7,6	3,11%
2	Kulit	447,4	15,6	3,48%
3	Organ dalam (Viscera)	840,8	19,5	2,03%

Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa ekstrak kasar duri dan kulit memiliki organoleptis yang hampir sama. Warna kedua ekstrak kasar tersebut adalah merah tua (Flamenco F5) yang bertekstur padatan. Ekstrak kasar organ dalam memiliki organoleptis yang berbeda yaitu ekstrak bertekstur padatan berminyak dengan warna coklat (Mochaccino C14-6, Tabel 4.1.1(2) dan Gambar 4.1.1). Namun demikian, ketiga ekstrak kasar memiliki bau yang sama yakni amis.

Tabel 4.1.1(2). Perbandingan organoleptis ekstrak kasar bagian tubuh *Acanthaster*

No	Ekstrak kasar	Warna	Tekstur	Bau
1	Duri	Flamenco F5	Padatan	Amis
2	Kulit	Flamenco F5	Padatan	Amis
3	Organ dalam	Mochaccino C14-6	Minyak kental	Amis



Gambar 4.1.1. Ekstrak kasar bagian tubuh *Acanthaster*  
 [Sumber: Dokumentasi Pribadi.]

#### 4.1.2 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Tahap I

Hasil analisis probit dengan SPSS 16 menunjukkan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak kulit adalah 483,150 ppm, ekstrak duri 227,304 ppm, dan ekstrak organ dalam 338,535 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ketiga ekstrak bersifat aktif. Suatu senyawa dapat dikatakan aktif atau toksik jika  $LC_{50} < 1000$  ppm.

### 4.1.3 Fraksinasi

Penelitian dilanjutkan ke tahap selanjutnya yakni fraksinasi. Ekstrak kasar yang dilanjutkan ke tahap fraksinasi adalah ekstrak yang paling aktif, yakni ekstrak kasar dari duri. Fraksinasi menggunakan tiga macam pelarut yakni, n-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semipolar, dan air yang berperan sebagai pelarut polar. Hasil dari fraksinasi menunjukkan bahwa ekstrak kasar lebih banyak terlarut dalam pelarut polar dengan berat fraksi air lebih besar dibandingkan dengan dua fraksi lainnya (Tabel 4.1.3(1)).

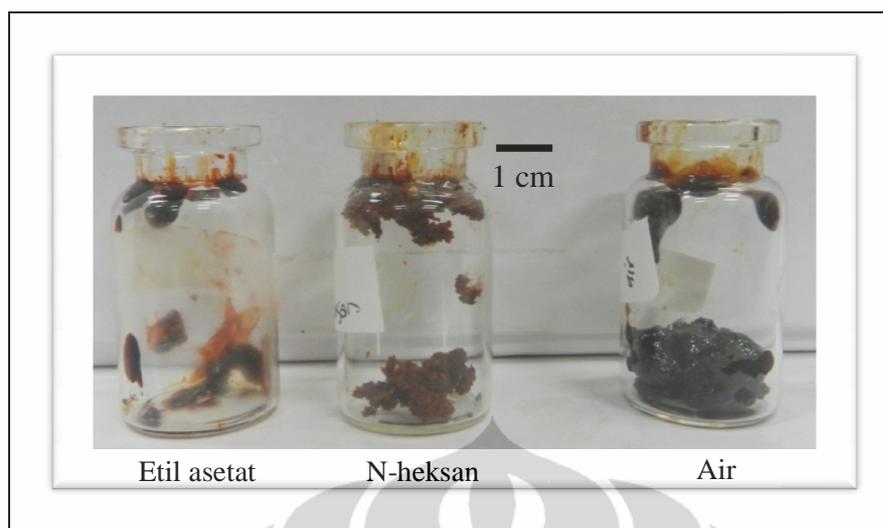
Tabel 4.1.3(1). Perbandingan berat serta persentase rendemen dari tiap fraksi

No	Fraksi	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
1	N Heksan	0,8	17,39%
2	Etil Asetat	0,3	6,52%
3	Air	3,5	76,08%

Hasil fraksinasi menunjukkan fraksi etil asetat bertekstur cairan berminyak dengan warna oranye tua (Red Rust F16). Fraksi n-heksan dan fraksi air menunjukkan organoleptis bertekstur padatan. Masing-masing fraksi n-heksan dan air memiliki organoleptis warna yang berbeda, fraksi air berwarna coklat muda (Thai Gold F22), sedangkan fraksi n-heksan berwarna oranye kecoklatan (Hot Tamate F14) (Tabel 4.1.3(2) dan Gambar 4.1.3).

Tabel 4.1.3(2). Perbandingan warna dan tekstur setiap fraksi

No	Bagian Tubuh	Warna	Tekstur
1	N Heksan	Hot Tamate F14	Padatan
2	Etil Asetat	Red Rust F16	Cairan berminyak
3	Air	Thai Gold F22	Padatan



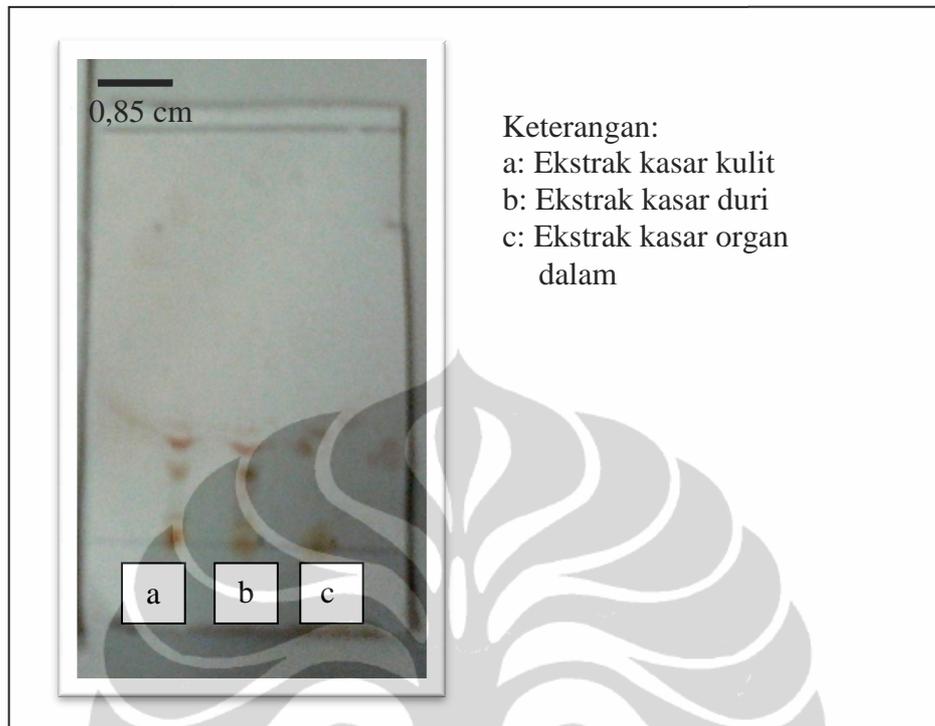
Gambar 4.1.3. Hasil fraksi yang sudah diuapkan dan dioven  
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

#### 4.1.4 *Brine Shrimp Lethality Test* Tahap II

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) tahap II dilakukan menggunakan tiga pelarut berbeda, yakni n-heksan, etil asetat, dan metanol. Jumlah nauplii artemia yang mati dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil BSLT tahap II menunjukkan bahwa ketiga fraksi merupakan senyawa aktif dengan fraksi yang paling aktif adalah fraksi n-heksan dengan nilai  $LC_{50}$  276,586 ppm. Dua fraksi lainnya memiliki nilai  $LC_{50}$  yang lebih tinggi, yakni fraksi air sebesar 376,487 ppm dan fraksi etil asetat sebesar 853,506 ppm.

#### 4.1.5 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi dilakukan menggunakan sistem eluen dengan komposisi diklorometan: n-heksan: asam asetat dengan perbandingan 7:2:1. Hasil kromatografi dari sampel bagian tubuh *Acanthaster* menunjukkan bahwa pola pemisahan bercak yang dimiliki ekstrak kasar duri dan ekstrak kasar kulit hampir sama, sedangkan ekstrak kasar organ dalam menunjukkan pola pemisahan bercak yang berbeda (Gambar 4.1.5(1)).



Gambar 4.1.5(1). Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak  
[sumber: Dokumentasi Pribadi.]

Hasil KLT dari ketiga fraksi menunjukkan bahwa pola pemisahan bercak fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat menunjukkan bercak yang hampir sama, sedangkan pola pemisahan bercak dari fraksi air tidak terlihat (Gambar 4.1.5(2)).



Gambar 4.1.5(2). Pelat Kromatografi TLC hasil fraksinasi ekstrak kasar duri  
 [sumber: Dokumentasi Pribadi.]

## 4.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar duri dan kulit memiliki kemiripan, pengamatan mengenai organoleptis kedua ekstrak tersebut menunjukkan hasil yang sama (Tabel 4.1.1(2)). Hasil KLT menunjukkan bahwa pola pemisahan bercak ekstrak kasar duri dan kulit hampir sama, selain itu hasil BLST tahap I juga menunjukkan nilai  $LC_{50}$  yang tidak jauh berbeda, dimana ekstrak kasar duri memiliki nilai  $LC_{50}$  227,304 ppm dan ekstrak kasar kulit 483,150 ppm. Hal tersebut diduga dapat terjadi karena duri dan kulit merupakan satu kesatuan. Saat memisahkan sampel menjadi tiga bagian, terlihat bahwa organ duri memiliki saluran pada kulit *Acanthaster*, sehingga diduga bahwa antara duri yang satu dengan duri lainnya saling berhubungan, dan menyebabkan ekstrak kasar duri dan kulit memiliki komposisi yang tidak jauh berbeda.

Hasil analisis probit BSLT tahap I menunjukkan bahwa ekstrak kasar duri memiliki keaktifan yang tertinggi dibandingkan ekstrak kasar lainnya dengan nilai  $LC_{50}$  227,304 ppm, meskipun organoleptis dan hasil KLT menunjukkan ekstrak kasar duri dan kulit hampir sama. Hal yang diduga menjadi penyebab  $LC_{50}$  ekstrak kasar duri lebih rendah dibandingkan ekstrak kasar kulit, karena persentase kuantitas senyawa-senyawa aktif pada ekstrak kasar duri lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar kulit, meskipun keduanya memiliki komposisi senyawa yang sama.

Berbeda dengan ekstrak kasar duri dan kulit, ekstrak kasar organ dalam memiliki organoleptis yang berbeda (Tabel 4.1.1(2) dan Gambar 4.1.1). Hasil dari KLT pun menunjukkan pola pemisahan bercak yang berbeda (Gambar 4.1.5(1)). Hal tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak kasar organ dalam memiliki kandungan senyawa yang berbeda. Zat yang terkandung dalam ekstrak kasar organ dalam memiliki keaktifan yang cukup tinggi dengan nilai  $LC_{50}$  338,535 ppm, walaupun masih di bawah keaktifan ekstrak kasar duri.

Ekstrak kasar organ dalam terdiri dari seluruh bagian tubuh *Acanthaster* kecuali duri dan kulit, termasuk di dalamnya usus. Hal yang membuat ekstrak kasar organ dalam berbeda dengan ekstrak kasar lainnya, diduga disebabkan kandungan senyawa yang terdapat pada usus. Usus *Acanthaster* mengandung makanan yang dimakan oleh *Acanthaster* seperti polip karang dan alga (Lucas *dkk.* 1979: 155; Manuputty 1990: 78).

Menurut Manuputty (1990), 88% dari ekstrak karang lunak terbukti mengandung senyawa toksik, yang di antaranya merupakan golongan terpen. Senyawa terpen tersebut dapat berguna untuk menghindari predator, karena senyawa tersebut mampu untuk melemahkan bahkan mematikan biota sesil yang hidup di sekitar hewan karang tersebut.

Karang lunak merupakan hewan yang masuk ke dalam filum yang sama dengan karang, yaitu Cnidaria dan keduanya hidup dalam ekosistem yang sama, sehingga diduga komposisi senyawa keduanya tidak jauh berbeda. Hasil tersebut dapat diasumsikan bahwa ekstrak organ dalam dapat bersifat aktif karena senyawa-senyawa terpen yang terdapat dalam makanan dari *Acanthaster*.

Fraksinasi menggunakan tiga macam pelarut yang disesuaikan dengan sifat pelarutnya, yakni non polar, semi polar, dan polar. Hal tersebut bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar duri sesuai dengan sifat kepolarannya. Pelarut n-heksan mewakili pelarut non polar, pelarut etil asetat mewakili pelarut semi polar, dan pelarut air mewakili pelarut polar. Hasil KLT dari ketiga fraksi menunjukkan bahwa fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat memiliki pola pemisahan bercak yang hampir sama, sedangkan pola pemisahan bercak fraksi air berbeda bahkan tidak terlihat (Gambar 4.1.5(2)). Hal tersebut berbeda dengan hasil BSLT, hasil analisis probit BSLT tahap II menunjukkan bahwa nilai  $LC_{50}$  fraksi n-heksan dan fraksi air tidak jauh berbeda, dimana nilai  $LC_{50}$  fraksi n-heksan sebesar 276,586 ppm dan fraksi air sebesar 376,487 ppm, sedangkan fraksi etil asetat memiliki nilai keaktifan yang jauh berbeda dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 853,506 ppm. Hasil BSLT tahap II juga menunjukkan fraksi teraktif memiliki nilai  $LC_{50}$  yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan  $LC_{50}$  yang dimiliki oleh ekstrak kasar duri.

Nilai  $LC_{50}$  hasil fraksinasi memiliki nilai yang lebih tinggi dari nilai  $LC_{50}$  ekstrak kasar duri diduga karena keaktifan ekstrak kasar duri merupakan gabungan senyawa-senyawa non polar, semi polar dan polar yang bekerja secara sinergis hingga mampu meningkatkan nilai keaktifan dari ekstrak kasar duri, sementara di sisi lain, saat senyawa-senyawa tersebut dipisahkan oleh proses fraksinasi, keaktifannya menjadi lebih rendah karena tidak ada aktivitas sinergisasi dari senyawa-senyawa lain yang tertarik ke fraksi lain yang berbeda (Bogoriana *dkk.* 2007: 4).

Hasil KLT fraksi mengindikasikan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat hampir sama, namun fraksi etil asetat memiliki nilai  $LC_{50}$  yang lebih tinggi dengan nilai  $LC_{50}$  853,506 ppm jika dibandingkan fraksi n-heksan (276,586 ppm). Hal tersebut diduga kuat karena ekstrak kasar dari etil asetat memiliki kelarutan yang rendah dalam air laut pada saat uji BSLT tahap II dilakukan, sehingga tidak terbentuk larutan yang homogen dan menyebabkan toksisitasnya menjadi lebih rendah dibandingkan dengan n-heksan.

Bintang laut selain memiliki asterosaponin sebagai senyawa khas dari metabolit sekundernya, namun ia juga memiliki senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam metabolit sekundernya, seperti sterol dan *sulfated sterols*, *protein-like substances*, tetrodotoxin dan *paralytic shellfish poison* (Kanagarajan *dkk.* 2008: 436). Senyawa-senyawa tersebut yang diduga tertarik ke fraksi n-heksan dan etil asetat. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa steroid dapat tertarik ke dalam pelarut n-heksan dan etil asetat (Januarti *dkk.* 2009: 52), dan menurut Sayeed (2007: 29), senyawa terpenoid juga dapat larut dalam pelarut n-heksan. Keaktifan fraksi n-heksan diduga karena adanya senyawa-senyawa tersebut.

Fraksi air yang tidak menunjukkan pola pemisahan bercak pada pelat KLT diduga karena ada beberapa sebab. Sistem Eluen yang digunakan pada proses kromatografi lapis tipis diduga bukan sistem eluen yang cocok untuk fraksi air yang sifatnya polar, sehingga menyebabkan fraksi air tidak mengalami pemisahan. Hal lain yang diduga menjadi penyebab fraksi air tidak mengalami pemisahan adalah karena metode deteksi senyawa yang tidak cocok. Sesungguhnya ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa, misalnya dengan sumber UV ataupun menggunakan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.

Senyawa yang diduga kuat terkandung dalam fraksi air adalah asterosaponin. Asterosaponin merupakan senyawa yang sangat polar, zat kimia toksik yang menyusun asterosaponin merupakan gabungan zat kimia yang sulit untuk dipisahkan. Keaktifan senyawa asterosaponin diduga berasal dari fukosa yang berada pada terminal unit molekul. Berdasarkan sifat asterosaponin yang bersifat polar dan aktif, tak heran jika fraksi air memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang cukup tinggi dan tidak terlihat dalam KLT dengan sistem eluen yang cenderung bersifat nonpolar (Komori 1997: 1537&1543).

Asterosaponin merupakan senyawa utama yang menjadi ciri khas dari metabolit sekunder bintang laut. Senyawa tersebut berguna untuk melindungi *Acanthaster* dari predatornya. Asterosaponin juga dapat menjadi senyawa yang menyebabkan kematian pada ikan, moluska, annelida, artropoda, dan juga vertebrata. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa saponin bintang laut mampu menghambat perkembangan dari telur *sea urchin* yang telah dibuahi.

Saponin menghambat perkembangan embrio, sehingga embrio tidak mampu berkembang melebihi fase morula. *Thornasteroside A*, *versicoside A*, dan *desulfated versicoside A* merupakan senyawa-senyawa golongan asterosaponin pada bintang laut yang dapat menyebabkan *temporal depression* pada tekanan darah tikus (Ivanchina *dkk.* 2011: 433; Komori 1997: 1543).



## BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak kasar bagian duri, kulit, dan organ dalam (viscera) bersifat aktif terhadap uji BSLT
2. Nilai keaktifan tertinggi dimiliki oleh ekstrak kasar duri dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 227,304 ppm.
3. Nilai keaktifan tertinggi pada fraksinasi ekstrak kasar duri dimiliki oleh fraksi n-heksan dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 276,286 ppm diikuti fraksi air sebesar 376,487 ppm dan fraksi etil asetat sebesar 853,506 ppm.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif spesifik yang terkandung di setiap fraksi yang diuji, sehingga diketahui jenis senyawa yang terkandung di dalamnya, sehingga dapat diketahui persebaran dari senyawa-senyawa yang terkandung di dalam tubuh *Acanthaster*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak kasar organ dalam dengan senyawa aktif yang terkandung dalam polip karang yang dimakan oleh *Acanthaster*, sehingga dapat diketahui apakah senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kasar organ dalam berasal dari makanan yang dimakan oleh *Acanthaster* atau tidak.

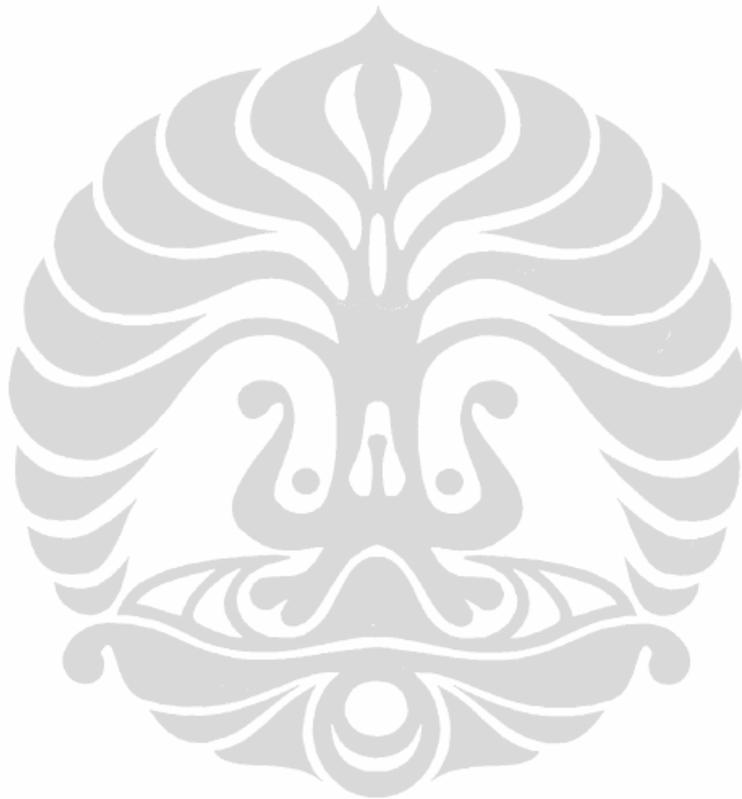
## DAFTAR ACUAN

- Albuntana, A., Yasman & W. Wardhana. 2011. Uji toksisitas ekstrak empat jenis teripang suku holothuriidae dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta menggunakan *brine shrimp lethality test* (BSLT). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis* **3**(1): 65--72.
- Arnold, P.W. & R.A. Birtles. 1989. *Soft-sediment marine invertebrates of Southeast Asia and Australia: a guide to identification*. Australian Institute of Marine Science. Townsville: xvi + 272 hlm.
- Asean Countries. 1993. *Standard of ASEAN herbal medicine Vol.1* Asean Countries, Jakarta: xi + 580 hlm.
- Bogoriani, N.W., S. R. Santi & I. A. R. A. Asih. 2007. Isolasi senyawa sitotoksik dari daun andong (*Cordyline terminalis* Kunth). *Jurnal Kimia* **1**(1): 1--6.
- Brodie, J., Katharina, F., Glenn, D. & Ken, O. 2004. Are increased nutrient inputs responsible for more outbreaks of crown-of-thorns starfish? An appraisal of the evidence. *Elsevier (Marine Pollution Bulletin)*: 1—13.
- Budiyanto, A. 2002. Sang bintang pemburu karang. *Warta Oseonografi* **16** (4): 17--19.
- Coremap. 2004. Biologi *Acanthaster planci*. 5 Juni 2004. 1 hlm.  
[http://www.coremap.or.id/berita/penelitian\\_research/article.php?id=184](http://www.coremap.or.id/berita/penelitian_research/article.php?id=184),  
16 Februari 2012, pk. 13.15.
- Darwis, D. 2006. *Teknik penelitian kimia bahan organik*. Workshop Peningkatan Sumberdaya Manusia Pengelolaan dan Penelitian Potensi Keanekaragaman Hayati, 21--27 Juni 2002, Padang: 1--32.
- Depkes RI (=Departemen Kesehatan Republik Indonesia). 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 66 hlm.
- Edwards, A.J. & Gomez, E.D. 2008. *Konsep dan panduan restorasi terumbu: membuat pilihan bijak di antara ketidakpastian*. Terj. dari *Reef restoration concepts and guidelines: making sensible management choices in the face of uncertainty*. Oleh: Yusri, S., Estradivari, N. S. Wijoyo, & Idris. Yayasan TERANGI, Jakarta: iv + 38 hlm.

- Firth, F.E. 1969. *The encyclopedia of marine resources*. Litton Educational Publishing, Inc.: xi + 739 hlm.
- Fraser, N., B. Crawford & J. Kusen. 2001. Buku Panduan Pembersihan Bintang Laut Berduri. Terj.dari *Best practices guide for crown-of-thorns clean-ups* oleh J. D. Kusen & J. J. Tulungen. University of Rhode Island, Coastal Resources Center, Narragansett, Rhode Island, USA: 35 hlm.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbitt & A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terj.dari *Introduction of Chromatography* oleh Padmawinata. Penerbit ITB, Bandung: 10a + 266 hlm.
- Ivanchina, N.V., A.A. Kicha & V.A. Stonik 2011. Steroids. *ELSEVIER*, steroids **76**: 425--254.
- Januarti, D. Osmeli & Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara, Sains* **13**(1): 50--54
- Kanagarajan, U., S. Bragadeeswaran, K.Venkateshvaran. 2008. On some toxinological aspects of the starfish *Stellaster equestris* (RETZIUS, 1805). *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* **14**(3): 435--449.
- Komori, Tetsuya. 1997. Toxins from the starfish *Acanthaster planci* and *Asterina pectinifera*. *Toxicon* **35**(10): 1527--1548.
- Lucas, J. S., R. J. Hart, M. E. Howden & R. Salathe. 1979. Saponins in eggs and larvae of *Acanthaster planci* (L.) (asteroidea) as chemical defences against planktivorous fish. *Elsevier* **40**: 155--165.
- Madl, P. 2002. *Acanthaster plancii* an overview of the crown of thorn starfish (COTs) as observed on the Great Barrier Reef (Australia) development, primary food sources, predators, control methods, and toxicity. 22 November 1998. 1 hlm. <http://biophysics.sbg.ac.at/planci/planci.htm>, 27 Februari 2012, pk. 15.00 WIB.
- Maier, M.S., R. Centurión., C. Muniain., R. Haddad. & M. N. Eberlin. 2007. Identification of sulfated steroidal glycosides from the starfish *Heliaster helianthus* by electrospray ionization mass spectrometry. *Arkivoc* **7**: 301--309.

- Manuputty, A. E. W. 1990. Senyawa terpen dalam karang lunak (Octocorallia: Alcyonacea). *Oseana* **15**(2) : 77--84.
- Montanher, A.B.P., M.G. Pizzolatti & I.M.C. Brighente. 2002. An application of the brine shrimp bioassay for general screening of brazilian medicinal plants. *Acta Farm. Bonaerense* **21**(3): 175--178.
- Munifah, I., T. Wikanta & M. Nursid. 2008.11 hlm. Sponge: biota laut penghasil senyawa bioaktif yang potensial.  
<http://www.scribd.com/doc/2559267/06Warta-Sponge>, 2 Maret 2012, pk. 10.00 WIB.
- Mutee, A.F., S.M. Salhimi, F.C. Ghazali, F.M. Al-Hassan, C.P. Lim, K. Ibrahim, & M.Z. Asmawi. 2012. Apoptosis induced in human breast cancer cell line by *Acanthaster planci* starfish extract compared to tamoxifen. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **6**(3): 129--134.
- Nurhayati, A. P. D., N. Abdulgani & R. Febrianto. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* terhadap *Artemia Salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo* **2**(1)6: 41– 46.
- Pechenik, J.A. 1996. *Biology of the Invertebrates*. The McGraw-Hill Companies, Inc., USA: xvii + 554 hlm.
- Rani, C., S. Yusuf. & F.D.S Benedikta. 2007. Preferensi dan daya predasi *Acanthaster planci* terhadap karang keras. (?). 14 hlm.  
<http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/59/Full%20Paper-Acanthaster.pdf?sequence=1>, 6 Maret 2012, pk. 14.00 WIB.
- Sayeed, A. 2007. PHARMACOGNOSY: Introduction of Plant Constituents and their Tests. 40 hlm.  
<http://www.scribd.com/doc/47074120/Pharmacognosy-dr-Ahmad>. 31 Mei 2012, pk. 12.00 WIB.
- Setyastuti, A. 2009. Biologi dan ekologi bintang laut mahkota duri, (*Acanthaster planci*). *Oseana* **34**(4): 17--24.
- Wiadnya, D.G.R. 2011. Bio-Ekologi ikan napoleon, *Cheilinus undulatus* (Rüppell, 1835) dan terumbu karang. (?). 5 hlm.  
<http://wiadnyadgr.lecture.ub.ac.id/files/2012/02/MakalahBioEkologi-Napoleon-StampBPSPL.pdf>, 2 Maret 2012, pk. 13.15 WIB.

- Yuliasih, I., T.T. Irawadi, I. Sailah, H. Pranamuda, K. Setyowati & T.C. Sunarti. 2007. Pengaruh proses fraksinasi pati sagu terhadap karakteristik fraksi amilosanya. *J. Tek ind pert.* **17**(1): 29--36.
- Yusron, E. 2009. Keanekaragaman jenis Ekhinodermata Di Perairan Teluk Kuta, Nusa Tenggara Barat. *Makara sains* **13**(1): 45--49.



Lampiran 1  
Hasil pengamatan BSLT tahap I

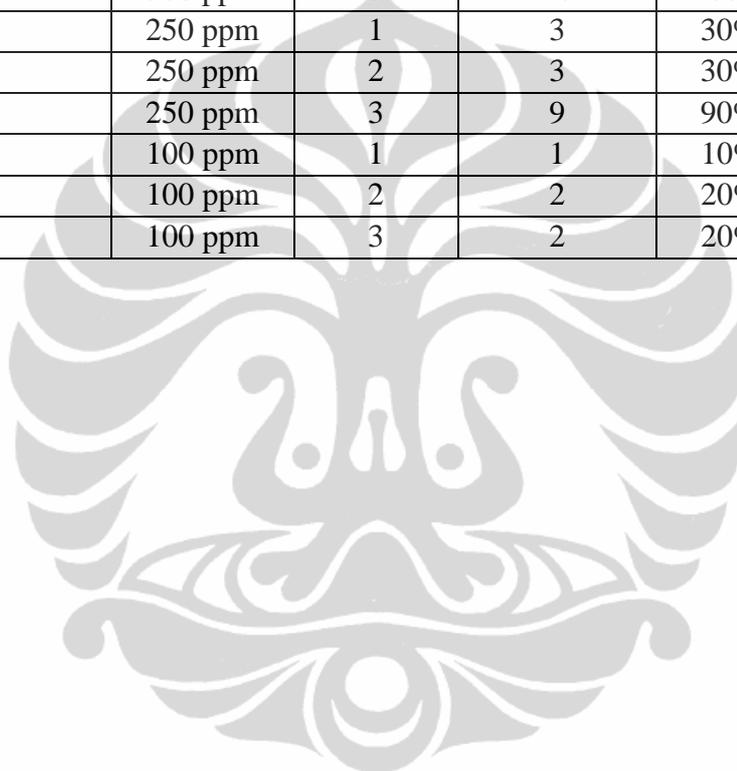
No	Fraksi	Konsentrasi	Ulangan	Jumlah kematian nauplii	Persen kematian nauplii		
1	Kulit	Kontrol	1	0	0%		
		Kontrol	2	0	0%		
		Kontrol	3	2	20%		
		1000 ppm	1	10	100%		
		1000 ppm	2	10	100%		
		1000 ppm	3	10	100%		
		750 ppm	1	0	0%		
		750 ppm	2	7	70%		
		750 ppm	3	5	50%		
		500 ppm	1	4	40%		
		500 ppm	2	8	80%		
		500 ppm	3	6	60%		
		250 ppm	1	5	50%		
		250 ppm	2	2	20%		
		250 ppm	3	3	30%		
		100 ppm	1	4	40%		
		100 ppm	2	4	40%		
		100 ppm	3	1	10%		
		2	Duri	Kontrol	1	0	0%
				Kontrol	2	0	0%
Kontrol	3			0	0%		
1000 ppm	1			10	100%		
1000 ppm	2			9	90%		
1000 ppm	3			10	100%		
750 ppm	1			9	90%		
750 ppm	2			9	90%		
750 ppm	3			10	100%		
500 ppm	1			10	100%		
500 ppm	2			9	90%		
500 ppm	3			10	100%		
250 ppm	1			8	80%		
250 ppm	2			5	50%		
250 ppm	3			6	60%		
100 ppm	1			2	20%		
100 ppm	2	6	60%				

		100 ppm	3	2	20%
3	Organ dalam	kontrol	1	0	0%
		kontrol	2	0	0%
		kontrol	3	0	0%
		1000 ppm	1	9	90%
		1000 ppm	2	10	100%
		1000 ppm	3	10	100%
		750 ppm	1	8	80%
		750 ppm	2	8	80%
		750 ppm	3	7	70%
		500 ppm	1	6	60%
		500 ppm	2	8	80%
		500 ppm	3	8	80%
		250 ppm	1	7	70%
		250 ppm	2	4	40%
		250 ppm	3	3	30%
		100 ppm	1	2	20%
		100 ppm	2	3	30%
		100 ppm	3	8	80%

Lampiran 2  
Hasil pengamatan BSLT tahap II

No	Fraksi	Konsentrasi	Ulangan	Jumlah kematian nauplii	Persen kematian nauplii		
1	n-heksan	kontrol	1	0	0%		
		kontrol	2	0	0%		
		kontrol	3	1	10%		
		1000 ppm	1	9	90%		
		1000 ppm	2	10	100%		
		1000 ppm	3	9	90%		
		750 ppm	1	8	80%		
		750 ppm	2	9	90%		
		750 ppm	3	7	70%		
		500 ppm	1	7	70%		
		500 ppm	2	9	90%		
		500 ppm	3	7	70%		
		250 ppm	1	8	80%		
		250 ppm	2	3	30%		
		250 ppm	3	4	40%		
		100 ppm	1	6	60%		
		100 ppm	2	5	50%		
		100 ppm	3	7	70%		
		2	etil asetat	kontrol	1	0	0%
				kontrol	2	1	10%
				kontrol	3	1	10%
1000 ppm	1			6	60%		
1000 ppm	2			7	70%		
1000 ppm	3			5	50%		
750 ppm	1			4	40%		
750 ppm	2			4	40%		
750 ppm	3			2	20%		
500 ppm	1			1	10%		
500 ppm	2			2	20%		
500 ppm	3			5	50%		
250 ppm	1			1	10%		
250 ppm	2			0	0%		
250 ppm	3			1	10%		
100 ppm	1			0	0%		
100 ppm	2			0	0%		
100 ppm	3			0	0%		
3	air	kontrol	1	0	0%		

		kontrol	2	0	0%
		kontrol	3	0	0%
		1000 ppm	1	10	100%
		1000 ppm	2	10	100%
		1000 ppm	3	10	100%
		750 ppm	1	5	50%
		750 ppm	2	10	100%
		750 ppm	3	5	50%
		500 ppm	1	8	80%
		500 ppm	2	8	80%
		500 ppm	3	10	100%
		250 ppm	1	3	30%
		250 ppm	2	3	30%
		250 ppm	3	9	90%
		100 ppm	1	1	10%
		100 ppm	2	2	20%
		100 ppm	3	2	20%



Lampiran 3  
Hasil analisis probit BSLT tahap I

Confidence Limits

organ	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup> kulit	0.01	-385.474	-689.628	-187.847
	0.02	-283.690	-558.575	-101.995
	0.03	-219.111	-475.940	-47.011
	0.04	-170.531	-414.099	-5.326
	0.05	-131.014	-364.034	28.819
	0.06	-97.380	-321.610	58.071
	0.07	-67.889	-284.572	83.879
	0.08	-41.483	-251.547	107.125
	0.09	-17.468	-221.634	128.388
	0.1	4.637	-194.211	148.073
	0.15	96.161	-81.981	230.881
	0.2	168.901	5.414	298.498
	0.25	231.305	78.831	358.065
	0.3	287.346	143.340	412.981
	0.35	339.277	201.780	465.206
	0.4	388.554	255.958	516.038
	0.45	436.230	307.146	566.449
	0.5	483.150	356.331	617.252
	0.55	530.070	404.355	669.215
	0.6	577.746	452.017	723.152
0.65	627.023	500.157	780.023	
0.7	678.953	549.767	841.077	
0.75	734.995	602.159	908.110	
0.8	797.399	659.295	983.959	
0.85	870.139	724.557	1073.708	
0.9	961.663	805.037	1188.266	
0.91	983.768	824.250	1216.161	

	0.92	1007.783	845.037	1246.551
	0.93	1034.189	867.796	1280.063
	0.94	1063.680	893.104	1317.600
	0.95	1097.314	921.839	1360.542
	0.96	1136.831	955.438	1411.152
	0.97	1185.411	996.533	1473.582
	0.98	1249.990	1050.851	1556.884
	0.99	1351.774	1135.866	1688.774
duri	0.01	-641.321	-988.832	-417.925
	0.02	-539.536	-857.121	-332.731
	0.03	-474.957	-773.936	-278.297
	0.04	-426.377	-711.594	-237.113
	0.05	-386.861	-661.054	-203.443
	0.06	-353.226	-618.171	-174.650
	0.07	-323.735	-580.683	-149.293
	0.08	-297.330	-547.213	-126.492
	0.09	-273.315	-516.859	-105.669
	0.1	-251.209	-488.996	-86.425
	0.15	-159.685	-374.531	-5.851
	0.2	-86.945	-284.796	59.424
	0.25	-24.541	-208.891	116.505
	0.3	31.500	-141.735	168.774
	0.35	83.431	-80.488	218.192
	0.4	132.708	-23.353	266.067
	0.45	180.384	30.924	313.388
	0.5	227.304	83.307	360.993
	0.55	274.224	134.609	409.678
	0.6	321.900	185.600	460.286
	0.65	371.177	237.093	513.804
	0.7	423.107	290.057	571.504
	0.75	479.148	345.791	635.195

	0.8	541.553	406.257	707.715
	0.85	614.293	474.864	794.118
	0.9	705.816	558.791	905.230
	0.91	727.922	578.722	932.406
	0.92	751.937	600.244	962.061
	0.93	778.342	623.760	994.816
	0.94	807.833	649.854	1031.567
	0.95	841.468	679.415	1073.682
	0.96	880.984	713.898	1123.409
	0.97	929.565	755.965	1184.868
	0.98	994.144	811.405	1267.047
	0.99	1095.928	897.870	1397.487
organ dalam	0.01	-530.090	-858.585	-318.564
	0.02	-428.305	-726.989	-233.256
	0.03	-363.726	-643.913	-178.712
	0.04	-315.146	-581.679	-137.421
	0.05	-275.630	-531.246	-103.644
	0.06	-241.995	-488.471	-74.743
	0.07	-212.504	-451.092	-49.276
	0.08	-186.098	-417.733	-26.364
	0.09	-162.084	-387.492	-5.429
	0.1	-139.978	-359.743	13.929
	0.15	-48.454	-245.886	95.112
	0.2	24.286	-156.830	161.066
	0.25	86.690	-81.683	218.904
	0.3	142.731	-15.372	272.018
	0.35	194.662	44.940	322.371
	0.4	243.939	101.047	371.275
	0.45	291.615	154.204	419.716
	0.5	338.535	205.377	468.531
	0.55	385.455	255.388	518.508

	0.6	433.131	305.013	570.481
	0.65	482.408	355.076	625.428
	0.7	534.338	406.556	684.613
	0.75	590.379	460.759	749.835
	0.8	652.784	519.649	823.930
	0.85	725.524	586.623	911.967
	0.9	817.047	668.816	1024.812
	0.91	839.153	688.380	1052.356
	0.92	863.168	709.523	1082.389
	0.93	889.574	732.647	1115.536
	0.94	919.065	758.332	1152.697
	0.95	952.699	787.459	1195.246
	0.96	992.215	821.475	1245.440
	0.97	1040.796	863.025	1307.416
	0.98	1105.375	917.861	1390.199
	0.99	1207.159	1003.538	1521.427

a. A heterogeneity factor is used.

Lampiran 4  
 Hasil analisis probit BSLT tahap II

Confidence Limits					
fraksi	Probabily	95% Confidence Limits for konsentrasi			
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT <sup>a</sup>	n-heksan	0.01	-670.618	-1015.242	-446.561
		0.02	-559.625	-873.052	-353.637
		0.03	-489.204	-783.186	-294.329
		0.04	-436.229	-715.802	-249.496
		0.05	-393.138	-661.151	-212.868
		0.06	-356.461	-614.762	-181.564
		0.07	-324.302	-574.195	-154.009
		0.08	-295.508	-537.965	-129.243
		0.09	-269.320	-505.099	-106.637
		0.1	-245.215	-474.922	-85.752
		0.15	-145.412	-350.875	1.614
		0.2	-66.091	-253.550	72.314
		0.25	1.959	-171.191	134.105
		0.3	63.070	-98.322	190.686
		0.35	119.698	-31.885	244.205
		0.4	173.433	30.045	296.101
		0.45	225.422	88.812	347.462
		0.5	276.586	145.445	399.212
		0.55	327.751	200.814	452.225
		0.6	379.740	255.744	507.423
0.65	433.475	311.114	565.879		
0.7	490.103	367.977	628.972		
0.75	551.214	427.748	698.651		
0.8	619.264	492.569	777.981		
0.85	698.584	566.155	872.419		
0.9	798.388	656.322	993.665		

	0.91	822.493	677.767	1023.282
	0.92	848.680	700.939	1055.583
	0.93	877.475	726.278	1091.239
	0.94	909.634	754.418	1131.221
	0.95	946.311	786.326	1177.006
	0.96	989.402	823.587	1231.024
	0.97	1042.377	869.100	1297.728
	0.98	1112.798	929.172	1386.830
	0.99	1223.791	1023.046	1528.070
etil asetat	0.01	-93.698	-362.224	91.242
	0.02	17.294	-223.733	187.866
	0.03	87.715	-136.761	250.067
	0.04	140.690	-71.898	297.421
	0.05	183.781	-19.549	336.351
	0.06	220.459	24.683	369.813
	0.07	252.618	63.195	399.423
	0.08	281.412	97.446	426.167
	0.09	307.599	128.391	450.694
	0.1	331.705	156.694	473.454
	0.15	431.508	271.810	569.751
	0.2	510.828	360.626	648.959
	0.25	578.878	434.727	719.008
	0.3	639.989	499.545	783.641
	0.35	696.618	558.145	844.997
	0.4	750.352	612.485	904.483
	0.45	802.341	663.947	963.149
	0.5	853.506	713.599	1021.879
	0.55	904.671	762.350	1081.510
	0.6	956.660	811.055	1142.933
	0.65	1010.394	860.612	1207.203
	0.7	1067.023	912.081	1275.689

	0.75	1128.134	966.871	1350.350
	0.8	1196.184	1027.099	1434.271
	0.85	1275.504	1096.435	1532.960
	0.9	1375.307	1182.604	1658.203
	0.91	1399.413	1203.267	1688.603
	0.92	1425.600	1225.657	1721.687
	0.93	1454.394	1250.209	1758.129
	0.94	1486.553	1277.556	1798.904
	0.95	1523.231	1308.655	1845.499
	0.96	1566.322	1345.081	1900.353
	0.97	1619.297	1389.713	1967.938
	0.98	1689.718	1448.819	2058.004
	0.99	1800.710	1541.540	2200.398
air	0.01	-570.717	-899.303	-355.665
	0.02	-459.725	-757.537	-262.317
	0.03	-389.304	-668.005	-202.676
	0.04	-336.329	-600.913	-157.551
	0.05	-293.238	-546.530	-120.654
	0.06	-256.560	-500.394	-89.096
	0.07	-224.401	-460.071	-61.298
	0.08	-195.607	-424.078	-36.295
	0.09	-169.420	-391.444	-13.457
	0.1	-145.314	-361.496	7.657
	0.15	-45.511	-238.577	96.151
	0.2	33.809	-142.399	167.997
	0.25	101.859	-61.235	230.983
	0.3	162.970	10.376	288.823
	0.35	219.598	75.487	343.668
	0.4	273.333	136.028	396.953
	0.45	325.322	193.351	449.758
	0.5	376.487	248.499	502.993

	0.55	427.652	302.361	557.512
	0.6	479.641	355.786	614.216
	0.65	533.375	409.674	674.154
	0.7	590.004	465.098	738.686
	0.75	651.115	523.490	809.745
	0.8	719.164	587.001	890.384
	0.85	798.485	659.347	986.061
	0.9	898.288	748.328	1108.494
	0.91	922.394	769.539	1138.345
	0.92	948.581	792.476	1170.880
	0.93	977.375	817.578	1206.773
	0.94	1009.534	845.479	1246.994
	0.95	1046.211	877.143	1293.024
	0.96	1089.303	914.150	1347.297
	0.97	1142.278	959.394	1414.269
	0.98	1212.699	1019.169	1503.668
	0.99	1323.691	1112.684	1645.267

a. A heterogeneity factor is used.

Lampiran 5  
Standar warna ACE PAINT

