

**EFEKTIVITAS EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
SEBAGAI INHIBITOR AUTOINDUCER *Vibrio harveyi* DENGAN UJI GC-MS**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh:
YETI MAYANTARI
NIM. 115080500111017



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

**EFEKTIVITAS EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
SEBAGAI INHIBITOR AUTOINDUCER *Vibrio harveyi* DENGAN UJI GC-MS**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh:
YETI MAYANTARI
NIM. 115080500111017



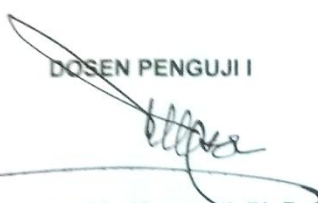
**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

EFEKTIVITAS EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*)
SEBAGAI INHIBITOR AUTOINDUCER *Vibrio harveyi* DENGAN UJI GC-MS

Oleh:
YETI MAYANTARI
NIM. 115080500111017

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 20 Maret 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I


Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D
NIP. 19460320 197303 1 001
Tanggal: 10 APR 2015

DOSEN PENGUJI II


Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si
NIP. 19671010 199702 1 001
Tanggal: 10 APR 2015

MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I


Dr. Ir. M. Fadjar, M. Sc
NIP. 19621014 198701 1 001
Tanggal: 10 APR 2015

DOSEN PEMBIMBING II


Dr. Ir. Maftuch, MS
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal: 10 APR 2015

MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP


Dr. Ir. Azzing Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19622825 198603 2 001
Tanggal : 10 APR 2015

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Februari 2015

Mahasiswi

YETI MAYANTARI



UCAPAN TERIMAKASIH

Penyusunan laporan skripsi ini tidak luput dari bantuan banyak pihak, untuk itu penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan kemudahan pada penulis dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
2. Mrakih (Bapak) dan Erni Widyastuti (Ibu) yang telah mendoakan, memberi semangat dan nasehat, serta memberikan dukungan moril maupun materil pada penulis.
3. Dr. Ir. M. Fadjar, MS selaku dosen pembimbing yang mempercayakan proyek pada penulis dan membimbing hingga akhirnya laporan skripsi ini terselesaikan dengan baik, Dr.Ir. Maftuch, MS selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing selama proses pengerjaan laporan.
4. Prof.Ir. Marsoedi, Ph.D dan Dr.Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si selaku dosen penguji yang telah bersedia menguji pada sidang skripsi.
5. Mbak Titin dan Mbak Heni yang telah membantu penulis dalam proses penelitian di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan.
6. Mbak Arinta, Mbak Nuriyani, dan Kadi yang telah memberikan semangat dan membantu penulis dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
7. Teman-teman Crew Sipirilli dan Aquatic Spartans BP 2011 yang telah banyak melewatkan waktu dan menjadi keluarga selama 4 tahun ini.
8. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan penyusunan laporan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Malang, Februari 2015

Penulis

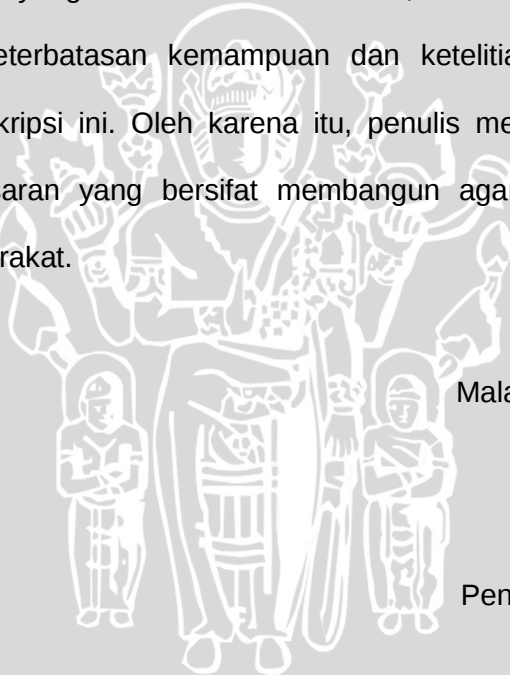
KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur “Alhamdulillahirobbil’alamin” kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat taufik serta hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul **“EFEKTIVITAS EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) SEBAGAI INHIBITOR AUTOINDUCER *Vibrio harveyi* DENGAN UJI GC-MS”**. Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Laporan skripsi yang telah terselesaikan ini, masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan kemampuan dan ketelitian penulis dalam penyusunan laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis memohon maaf dan mengharapkan kritik saran yang bersifat membangun agar tulisan ini lebih bermanfaat bagi masyarakat.

Malang, Februari 2015

Penulis



RINGKASAN

YETI MAYANTARI. Efektivitas Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo Sp.*) sebagai *Inhibitor Autoinducer Vibrio harveyi* dengan Uji GC-MS. **Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc** dan **Dr. Ir. Maftuch, MS.**

Budidaya udang secara tradisional, intensif, dan semi intensif dapat menimbulkan dampak terhadap penurunan kualitas perairan, sehingga dapat menurunkan kesehatan udang dan akan menimbulkan beberapa penyakit diantaranya adalah penyakit vibriosis. Penyakit vibriosis menyerang saat mengalami stress dan lemah hingga mengalami kematian. Penyakit vibriosis disebabkan oleh beberapa golongan bakteri vibrio diantaranya *Vibrio harveyi*. Pencegahan yang dilakukan banyak menggunakan bahan sintesis seperti antibiotik, yang akan berdampak negatif seperti resistensi antibiotik. Untuk menghindari hal tersebut, maka dibutuhkan antibakteri alternatif yang mampu menghambat sistem komunikasi antar sel bakteri (sistem *quorum sensing*) dengan penggunaan ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) sebagai inhibitor *autoinducer* bakteri *V. harveyi*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) sebagai penghambat *quorum sensing V. harveyi* dengan uji GC-MS. Penelitian ini dilaksanakan Laboratorium Kimia Organik, Universitas Islam Negeri Malang pada Januari 2015 dan Laboratorium Forensik Kantor Polisi Daerah Surabaya pada Februari 2015. Penelitian ini menggunakan dua sampel yang diuji GC-MS, yaitu ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol dan ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol yang ditambahkan HSL (*Homoserine Lactone*) untuk diketahui hasil pecahan dari masing-masing sampel, sehingga diketahui senyawa atau fragmen yang mampu bersifat sebagai inhibitor *autoinducer V. harveyi*.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pada masing-masing sampel ditemukan 2 senyawa dominan yaitu *2-piperidinone (γ-valerolactam)* dan kolesterol, serta pada sampel yang telah ditambahkan dengan HSL, senyawa lain yang muncul adalah fenol yang telah diketahui mampu bersifat sebagai anti bakteri. Senyawa *2-piperidinone (γ-valerolactam)* juga telah diketahui mampu menjadi inhibitor HSL karena sifatnya yang stabil. Ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) merupakan antibakteri yang mampu menghambat sistem *quorum sensing* dari *V. harveyi*.

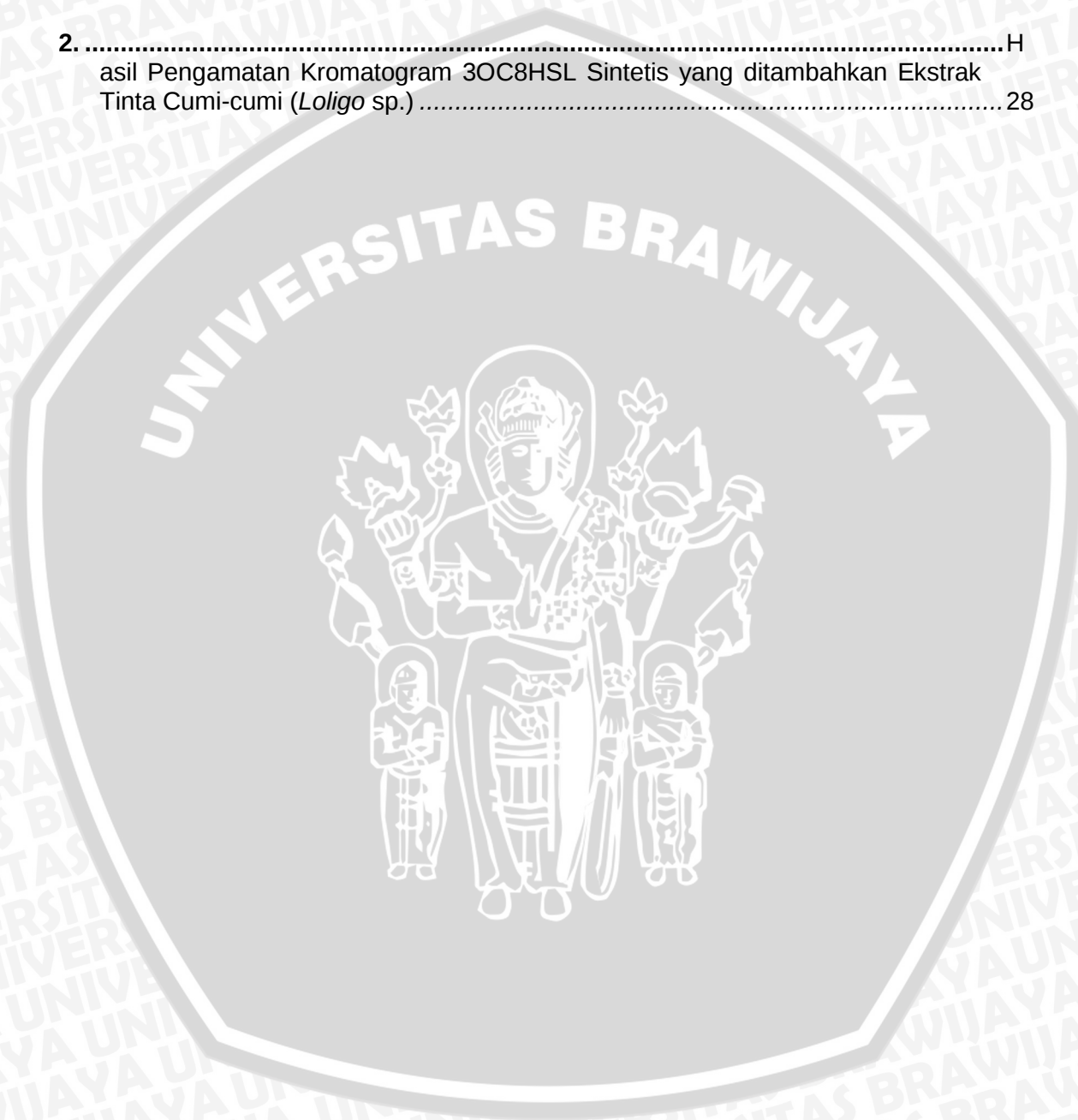
DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	
1.1	L
atar Belakang	1
1.2	R
umusan Masalah Tujuan Penelitian	3
1.3	T
ujuan Penelitian	3
1.4	H
ipotesis	3
1.5	K
egunaan	4
1.6	T
empat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1	K
lasifikasi dan Morfologi Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	5
2.2	P
emanfaatan Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.) di Bidang Pengobatan	7
2.3	E
kstraksi Bahan	8
2.4	K
lasifikasi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	11
2.5	K
arakteristik Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	11
2.6	Q
uorum Sensing (QS) dan Quorum Quenching (QQ)	12
2.7	H
omoserine Lactone (HSL)	15
2.8	G
C/MS (Gass Chromatography-Mass Spectrometry)	16
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	19
3.1.1	A
lat-alat Penelitian	19

3.1.2	B
ahan-bahan Penelitian.....	19
3.2	M
etode Penelitian.....	20
3.3	P
rosedur Penelitian.....	20
•	P
ersiapan Pengambilan Kantong Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.).....	20
•	E
kstraksi Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	21
•	P
embuatan Stok HSL (<i>Homoserine Lactone</i>).....	22
•	I
identifikasi Senyawa yang terkandung dalam Tinta Cumi-cumi dengan Pelarut Metanol dan Senyawa Hasil Pemotongan Ekstrak Tinta Cumi-cumi terhadap 3OC8HSL yang dilakukan dengan Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (GC-MS)	22
•	A
nalisa Data.....	23
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	U
ji GC-MS (<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>) Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol	24
4.2	U
ji GC-MS (<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>) <i>N-octanoyl-L-Homoserine-Lactone</i> (3OC8HSL) Sintetis yang ditembak dengan Ekstrak Tinta Cumi-cumi yang Menggunakan Pelarut Metanol.....	26
4.3	F
ragmentasi Senyawa Hasil Reaksi HSL (<i>Homoserine Lactone</i>) dengan Ekstrak Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	29
5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	31
5.2 Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.	H
asil Pengamatan Uji GC-MS Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Pelarut Metanol.....	25
2.	H
asil Pengamatan Kromatogram 3OC8HSL Sintetis yang ditambahkan Ekstrak Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	28



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1.	M
orfologi Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	5
2.	M
odel Quorum Sensing <i>V. harveyi</i>	14
3.	K
romatogram Uji GC-MS Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol	24
4.	S
truktur Senyawa Kimia Piperidinone dan Kolesterol	25
5.	K
romatogram 3OC8HSL Sintetis yang ditambahkan Ekstrak Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. uncak Kromatogram Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol yang diuji GC-MS.....	P 36
2. anjutan.....	L 37
3. anjutan.....	L 38
4. anjutan.....	L 39
5. anjutan.....	L 40
6. anjutan.....	L 41
7. anjutan.....	L 42
8. uncak Kromatogram 3OC8HSL Sintetis yang ditambahkan Ekstrak Tinta Cumi- cumi (<i>Loligo</i> sp.).....	P 43
9. anjutan.....	L 44
10. anjutan.....	L 45
11. anjutan.....	L 46

12.	L
anjutan.....	47
13.	S
kema Kerja Uji GC-MS (<i>Gass Chromatography-Mass Spectrometry</i>)	48
14.	A
lat Penelitian	49
15.	L
anjutan.....	50



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Program pemerintah hingga 2014 memproyeksikan produksi perikanan budidaya rata-rata sebesar 353 % dan khusus dari udang 201 %. Hingga saat ini produktivitas tambak udang yang dikelola secara tradisional, khususnya di Sulawesi Selatan, masih sekitar 200 kg/ha. Oleh karena itu, dalam upaya untuk mendukung program tersebut perlu upaya peningkatan produksi udang dari budidaya baik untuk udang windu maupun udang vaname. Sejak diintroduksi ke Indonesia pada tahun 1999, pada masa sekarang ini budidaya udang vaname baik tradisional, semi intensif, maupun intensif telah berkembang di beberapa daerah di Indonesia, dan telah mampu menyumbang 70 % dari total produksi udang di Indonesia (Gunarso dan Mansyur, 2010).

Pada budidaya udang, masalah yang sering muncul adalah serangan bakteri, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian benih/larva udang. Bakteri Vibriosis adalah jenis bakteri yang lebih banyak menyerang larva udang yaitu pada saat udang dalam keadaan stress dan lemah, oleh karena itu sering dikatakan bahwa bakteri termasuk opportunistik pathogen. Akibatnya menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup tinggi (Nasi *et al.*, 2011).

Penyakit yang disebabkan oleh genus *Vibrio* ini menimbulkan cahaya pada tubuh udang sehingga sering disebut penyakit kunang-kunang. Spesies bakteri penyebab vibriosis bukan hanya berasal dari *Vibrio harveyi*, melainkan golongan *V. carcharial*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. parahaemolyticus* juga mengancam ketahanan tubuh udang (Hatmanti, 2003). Namun, *V. harveyi* dikenal sebagai bakteri yang paling patogen pada udang, baik dalam hatchery maupun setelah ditebar dalam tambak (Trianto *et al.*, 2004).

Kemampuan bakteri dalam mengeluarkan sifat patogenitasnya dapat dilihat dari sistem *quorum sensing*. *Quorum sensing* adalah mekanisme yang memungkinkan bakteri untuk berkomunikasi antara sel satu dengan yang lain. Berarti bahwa kegiatan yang dikendalikan oleh *quorum sensing* diinduksi saat populasi bakteri mencapai kepadatan tinggi. Sistem *signaling* ini memungkinkan populasi bakteri untuk berkoordinasi mengatur fungsi menurut jumlah sel dalam lingkungan yang ditetapkan (Croxatto, 2006). *Autoinducer* adalah jenis sinyal kimia yang dihasilkan oleh bakteri (gram positif atau gram negatif) untuk membentuk sistem *quorum sensing* (Schauder *et al.*, (2001).

Faktor virulensi dari bakteri *V. harveyi* meliputi endotoksin, eksotoksin, haemolisin, kitinase, lesitin, salinitas rendah, dan R plasmid (Abraham, 2006). Kemampuan virulensi dari *V. harveyi* dapat dilemahkan dengan penggunaan beberapa cara, diantaranya adalah antibiotik. Tetapi penggunaan antibiotik dapat menimbulkan dampak negatif yaitu bakteri tersebut menjadi resisten terhadap antibiotik (Evan, 2009).

Untuk menghambat sistem *quorum sensing* pada *V. harveyi* diperlukan bahan yang mampu mengacaukan pembentukan sistem *quorum sensing*nya. Penelitian terbaru menyatakan bahwa tinta cumi-cumi memiliki kemampuan membunuh sel kanker, meningkatkan nilai leukosit, antioksidan, antiradiasi, antivirus, dan antibakteri (Zhong *et al.*, 2009). Sedangkan menurut Girija *et al.* (2012), ekstraksi tinta sotong pada konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, tinta dari jenis *Sepia officinalis* dapat dijadikan sebagai bahan pengawet dan antioksidan, serta tinta dari jenis *Sepiella inermis* dapat digunakan sebagai antivirus dan penelitian Girija *et al.* (2012), tentang kemampuan antibakteri dari ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo duvauceli*) dengan menggunakan pelarut n-heksan mampu melawan produksi ESBL strain

Escherichia coli dengan diameter daya hambat 18 mm dan *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter daya hambat 22 mm.

Berdasarkan informasi mengenai manfaat tinta cumi-cumi yang memiliki sifat antimikroba, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang kemampuan ekstrak tinta cumi-cumi yang berpotensi terhadap penghambatan sistem *quorum sensing* *V. harveyi* melalui uji GC-MS.

1.2 Rumusan Masalah

Salah satu sinyal yang digunakan oleh bakteri pada sistem *quorum sensing* yaitu sinyal AI-1 (*Autoinducer-1*) dengan senyawa kimia yang disintesis adalah golongan HSL (*Homoserine Lactone*), dengan menghambat sinyal tersebut dalam sistem *quorum sensing* bakteri, maka akan menurunkan kemampuan patogenitasnya terhadap inang dan diduga ekstrak tinta cumi-cumi dapat berperan sebagai *inhibitor autoinducer V. harveyi*. Berkaitan dengan hal tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

- Apakah ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dapat menghambat *quorum sensing V. harveyi* dalam uji GC-MS ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) sebagai penghambat *quorum sensing V. harveyi*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini terdiri dari H_0 dan H_1 , yang menyatakan bahwa :

H_0 : Diduga ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) tidak dapat digunakan sebagai penghambat *autoinducer* dari *V. harveyi*.

H₁ : Diduga ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dapat digunakan sebagai penghambat *autoinducer* dari *V. harveyi*.

1.5 Kegunaan

Hasil uji GC-MS ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) diharapkan mampu memberikan informasi bagi masyarakat tentang manfaatnya sebagai penghambat *quorum sensing* *V. harveyi*, sehingga meminimalisir penyebaran penyakit vibriosis di lingkungan budidaya.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Universitas Islam Negeri Malang pada Januari 2015 untuk melakukan ekstraksi dan untuk melakukan uji GC-MS dilakukan di Laboratorium Forensik Kantor Polisi Daerah Surabaya pada Februari 2015.

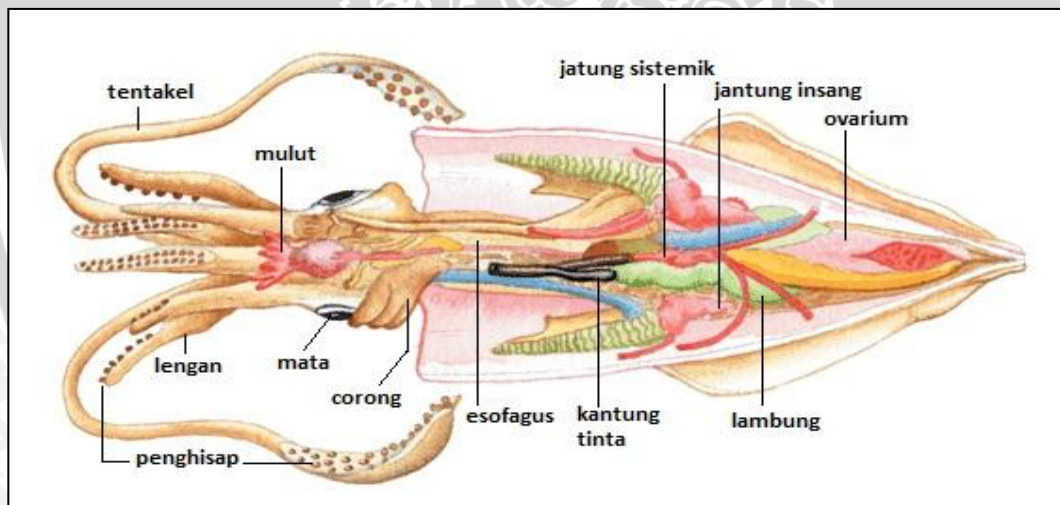


2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi Cumi-cumi (*Loligo* sp.)

Menurut Anonymous (2013a), klasifikasi cumi-cumi dapat dijabarkan sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Filum : Mollusca
 Kelas : Cephalopoda
 Ordo : Theotida
 Famili : Loliginidae
 Genus : *Loligo*
 Spesies : *Loligo* sp.



Gambar 1. Morfologi Cumi-cumi (*Loligo* sp.) (Barnes, 1968)

Menurut Derec (2009), cumi-cumi merupakan salah satu jenis spesies laut dari golongan mollusca yang terdiri dari beberapa macam spesies, diantaranya *Loligo duvacei*, *L. indica*, *L. p ealei*, dan sebagainya. Cumi-cumi tergolong hewan nokturnal dan merupakan predator aktif. Hewan yang termasuk kelas *cephalopoda* ini memiliki adaptasi terhadap salinitas dalam kisaran luas. Berdasarkan pendapat Prabawati (2005), karakteristik cumi-cumi adalah adanya

kantung tinta yang terdapat di atas usus besar dan bermuara di dekat anus, yang biasanya digunakan oleh hewan tersebut sebagai pertahanan diri terhadap musuh.

Menurut Rudiana dan Pringgenis (2004), cumi-cumi (*Loligo sp.*) memiliki bentuk simetri bilateral dan dapat dibedakan atas kepala, leher dan mantel/badan. Perbedaan cumi-cumi jantan dan betina dapat dibandingkan dari bentuk tubuhnya, jantan berukuran lebih panjang lebih langsing sedangkan betina lebih lebar dan pendek. Genus *Loligo* memiliki sirip di ujung posterior mantel, 4 pasang tangan dan satu pasang tangan yang sangat panjang atau disebut tentakel yang dilengkapi dengan alat pengisap. Hewan ini memiliki sifat *bioluminescent*, yaitu organisme yang mampu menghasilkan emisi cahaya karena ada reaksi kimia tertentu. Cumi-cumi bersifat karnivora yang biasanya memakan udang, ikan pelagis kecil. Habitatnya mulai dari permukaan hingga kedalaman 100 meter yang ditumbuhi lamun dan karang (Ismail *et al.*, 2013).

Secara fisiologi cumi-cumi golongan *Loligo sp.* menggunakan aliran air dalam rongga mantelnya selain sebagai alat gerak juga sebagai penyedia oksigen untuk pernafasan. Sistem peredaran darah pada hewan ini adalah peredaran darah tertutup. Keberadaan pembuluh kapiler, beberapa arteri yang berkontraksi, dan sepasang jantung insang menaikkan tekanan darah pada *cephalopoda* sehingga mempercepat saat renang. Darah cumi-cumi mengandung *hemocyanin*. Alat ekskresi pada cumi-cumi adalah nephridia. Sistem syarafnya berupa ganglia yang terletak berjauhan, dengan beberapa syaraf penghubung. Tipe reproduksi hewan laut ini adalah diocious dengan gonad yang terletak di ujung posterior (Suwignyo *et al.*, 2005).

Mohanroju *et al.* (2013), cumi-cumi tergolong *mollusca* yang mengandung banyak manfaat. Tinta yang menjadi pertahanan diri dari predatornya memiliki manfaat sebagai antitumor dan antibakteri untuk beberapa jenis bakteri. Sifat

antimikrobal berasal dari tulang rawan cumi dan mantel dari *Sepia parshadi* serta diketahui mampu melawan 10 patogen yang menyerang manusia baik itu bakteri maupun jamur.

2.2 Pemanfaatan Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.) di Bidang Pengobatan

Menurut Girija *et al.* (2012), cumi-cumi telah terbukti berperan dalam dunia pengobatan. Pada konsentrasi tertentu tinta cumi-cumi telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Studi penelitian telah menggunakan sejumlah bahan pengawet dan antioksidan dari tinta cumi golongan *Sepia officinalis*. *Tyrosinase* adalah sebuah enzim dalam tinta cumi-cumi yang diketahui berperan dalam pertahanan dari mikroba. Tinta cumi berbentuk cairan yang komponennya didominasi oleh melanin yang berwarna hitam pekat.

Menurut Liu *et al.*, (2011), tinta cumi-cumi mengandung beberapa campuran diantaranya melanin, protein, karbohidrat, dan lemak. Protein berkisar 6,33 %, melanin 15,41 %, sakarida 5,15 %, lipid 0,19 %, dan air 74,92 %. Penelitian sebelumnya oleh Takaya *et al.* (1994b); Chen *et al.* (2000); Zhen *et al.* (2002), mengungkapkan bahwa di dalam tinta cumi-cumi terkandung 9 asam lemak diantaranya terdapat asam lemak jenuh dan tak jenuh serta diperkaya oleh 16 asam amino di dalamnya. Sedangkan menurut Okozumi dan Fujii (2000) dalam Kurniawan *et al.* (2012), melanoprotein tinta cumi-cumi mengandung asam amino esensial yang dominan yaitu berupa fenilalanin, leusin, dan arginin. Sementara kadar asam amino non esensial yang dominan adalah asam glutamat dan alanin. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wang (2010), polisakarida yang terkandung dalam tinta cumi mampu meningkatkan kemampuan antioksidan dari ayam broiler, dengan melihat peningkatan aktivitas SOD dan penurunan MDA.

Tinta merupakan bahan yang digunakan oleh salah satu hewan *cephalopoda* sebagai alat perlindungan diri. Terdapat tiga mekanisme dari perlindungan tinta cumi, yaitu menyebabkan predator menghindar akibat tinta yang dapat merubah daerah sekitar predator menjadi gelap berlanjut dengan terganggunya predator akibat dari zat yang terkandung pada tinta yang bersifat atraktif dan apertif serta tinta pada akhirnya mengganggu aktifitas sensorik dari predator (Derby *et al.*, 2013).

Menurut Zhong, *et al.* (2009), tinta cumi-cumi memiliki peran biologis, yaitu menghambat aktivitas plasmin, memunculkan respon imunologis, membunuh sel-sel kanker sehingga memberi efek antitumor, meningkatkan jumlah leukosit, sebagai antioksidan, antiradiasi, antiretrovirus, dan sifat antibakteri. Selain itu menurut Lei *et al.* (2007), tinta cumi-cumi bisa melindungi terhadap cedera *hemopoietic* yang disebabkan oleh radiasi.

2.3 Ekstraksi Bahan

Ekstraksi yaitu penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan mampu terikat oleh pelarut. Sedangkan ekstrak merupakan sediaan sari pekat yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan, dengan menghilangkan hampir semua dari pelarutnya dan menyisakan endapan atau serbuk dari bahan tersebut (Horward, 1989 dalam Ermawati, 2010).

Menurut Ernawati (2007) dalam Pranoto (2012), kepolaran senyawa yang akan diekstrak merupakan hal yang utama untuk menentukan bahan yang akan digunakan dalam pengekstrakan. Suatu senyawa menunjukkan kelarutan yang berbeda pada pelarut yang berbeda kepolarannya. Pelarut semi polar misalnya etil asetat dapat menarik senyawa fenol dan terpenoid, sedangkan pelarut polar seperti metanol dapat menarik senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik,

karotenoid, dan tannin. Sedangkan senyawa yang dapat terikat pada pelarut metanol adalah saponin, alkaloid, polyhidroksisteroid.

Menurut Aprianti (2011), metode ekstraksi berdasarkan fasa zatnya ada dua macam yaitu, ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Bila mengekstraksi fase berair dengan fase organik, air yang terlarut perlu dibuang sebelum bahan yang diekstrak dipulihkan melalui penguapan pelarut. Ekstraksi padat-cair atau leaching merupakan proses yang bersifat fisik karena komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi ke keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi. Ekstraksi dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam solven pengekstraksi. Ekstraksi berkelanjutan diperlukan apabila padatan hanya sedikit larut dalam pelarut. Namun sering juga digunakan pada padatan yang larut karena efektivitasnya.

Menurut Ibrahim dan Sitorus (2013), ekstraksi senyawa organik berdasarkan tekniknya dibagi menjadi beberapa macam, antara lain :

1. Corong Pisah

Teknik ini digunakan untuk mengekstraksi senyawa organik yang terlarut dalam suatu pelarut dengan pelarut lainnya dan antara kedua pelarut tidak saling melarutkan, serta senyawa yang akan diekstrak kelarutannya lebih besar dalam pelarut pengekstrak atau koefisien distribusinya (K_D) lebih besar. Pengekstrasian akan sempurna bila pelarut dengan volume yang sama dilakukan berkali-kali dibandingkan dengan hanya satu kali proses.

2. Pemerasan

Dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa organik yang berbentuk cairan atau padatan dari bahan berbentuk padatan. Keunggulan teknik ini yaitu tidak meninggalkan residu pelarut dalam bahan yang diekstrak, namun tidak cocok digunakan pada bahan yang kadarnya rendah seperti halnya hasil alam khususnya metabolit sekunder.

3. Distilasi

Teknik pemisahan yang didasarkan karena adanya perbedaan titik didih antara komponen-komponen yang akan dipisahkan. Bila perbedaan titik didih komponen makin besar maka pemisahan akan berlangsung baik dan hasilnya semakin murni. Titik didih senyawa yang dipisahkan dengan cara ini yaitu dibawah 250°C . Terdapat 3 macam distilasi, yaitu :

- a) Distilasi normal, untuk memisahkan senyawa yang dapat menguap dibawah suhu 130°C .
- b) Distilasi uap, digunakan untuk zat yang mudah rusak atau terurai pada titik didihnya.
- c) Distilasi vakum, digunakan untuk senyawa yang bertitik didih tinggi.

4. Sublimasi

Teknik ini digunakan untuk pemurnian kotoran (impurities dari bahan yang dimurnikan, keuntungannya yaitu mencegah dekomposisi senyawa yang menyublim pada suhu tinggi dan tidak perlu menggunakan pelarut.

5. Maserasi

Merupakan teknik perendaman bahan yang diekstraksi dan disaring setelah beberapa waktu setelah direndam.

6. Perkolasi

Yaitu cara melewati pelarut dari bahan yang akan diekstrak dan dapat dilakukan dalam keadaan panas maupun dingin.

7. Sokletasi

Pengekstrasian secara kontinu untuk menarik zat padat atau cair dari suatu bahan padatan dengan menggunakan pelarut bertitik didih rendah (seperti, aseton, metilen klorida, dan petroleum eter). Namun, bila pelarut memiliki nilai titik didih yang terlalu tinggi maka, akan dapat merusak senyawa yang akan diekstrak pada waktu proses sirkulasi dengan suhu tinggi.

2.4 Klasifikasi Bakteri *Vibrio harveyi*

Menurut Anonymous (2014), klasifikasi bakteri *Vibrio harveyi* dapat dijabarkan sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Family	: Vibrionacea
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>Vibrio harveyi</i>

2.5 Karakteristik Bakteri *Vibrio harveyi*

Menurut Ransangan *et al.* (2012), spesies dari bakteri *Vibrio* antara lain, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. cholera*, *fluvialis*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. vulnificus*. Bakteri *V. harveyi* tergolong bakteri gram negative, yang hidup di air laut, perairan bebas, dan kolom air, serta dalam usus hewan laut. *V. harveyi* adalah bakteri yang mempunyai ciri-ciri bentuk batang melengkung, semua anggota genusnya bersifat motil dan memiliki flagela polar dengan selubung, bersifat anaerob fakultatif dan positif oksidase yang tidak membentuk spora dan biasanya ditemukan dalam air laut (Baumann *et al.*, 1984 dalam Mirbakhs *et al.*, 2013). Menurut Yanuhar (2011), genus *Vibrio* merupakan patogen oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan lalu berkembang dari sifat yang saprofit menjadi patogenik karena kondisi lingkungan memungkinkan. Bakteri vibrio ini juga dapat hidup di bagian luar tubuh dengan jalan menempel, yang pada akhirnya dapat menimbulkan kerusakan pada bagian luar tubuh maupun pada organ tubuh bagian dalam seperti hati, dan usus (Feliatra, 1999).

Menurut Meighen (1991) dalam Evan (2009), kemampuan berpendar dari *Vibrio harveyi* merupakan hasil aktivitas enzim *luciferase* yang dapat berfungsi sebagai katalisator dalam proses oksidasi reduksi. Proses oksidasi melibatkan flavin mononukleotida dan aldehyd alifatik rantai panjang sebagai substratnya. Senyawa-senyawa tersebut masing-masing diubah menjadi flavin mononukleotida dan asam lemak disertai dengan pelepasan emisi cahaya dengan panjang gelombang sekitar 490 nm. Gen-gen yang mengkodekan fungsi berpendaran ini disandikan dalam suatu operon yang disebut dengan operon *lux*. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas antara 20-30 ppt dengan pH 7,0 dan bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa adanya oksigen (Holt dan Krieg, 1984). Berdasarkan Roza dan Zafran (1998) dalam Hatmanti (2003), batas aman keberadaan bakteri ini pada lingkungan pemeliharaannya adalah $8,35 \times 10^4$ koloni/ml.

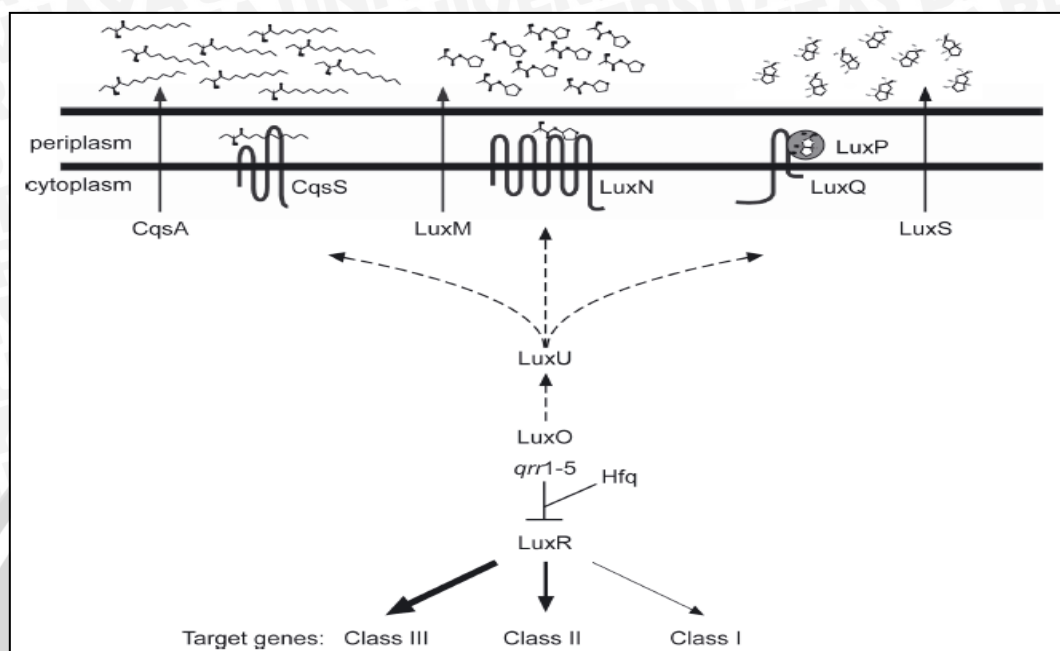
2.6 Quorum Sensing (QS) dan Quorum Quenching (QQ)

Menurut Schauder *et al.* (2001), pada bakteri gram-negatif, *quorum sensing* merupakan sistem yang digunakan oleh bakteri untuk berkomunikasi antar selnya, biasanya proses ini melibatkan *homoserine lactone* (HSL) atau sering disebut dengan *autoinducer* (AI-1). Pengikatan HSL sebagai *autoinducer* oleh LuxR, menghasilkan protein dalam aktivasi transkripsi gen target yang spesifik. Berbeda dengan bakteri *quorum sensing* gram-negatif lainnya, *V. harveyi* mengatur *quorum sensing* melalui dua komponen fosforilasi rumit. Bakteri jenis ini memproduksi dan merespon dua jenis *autoinducer* yaitu AI-1 dan AI-2. AI-1 adalah *homoserine lactone N-(3-hidroksibutanoil)-L-homoserine lactone* dan digunakan sebagai komunikasi antar spesies yang sama (intraspesies). Sedangkan untuk AI-2 digunakan untuk hubungan interspesies.

Menurut You *et al.*, (2007), *quorum sensing* mempunyai peran penting dalam pembentukan biofilm. *Quorum sensing* dalam kerjanya memanfaatkan AHLs adalah salah satu faktor virulensi dari *Vibrio* spp., dan senyawa ini akan disintesis saat populasi bakteri meningkat. AHL diproduksi oleh LuxI homolog dengan LuxR homolog. Hasil penelitian menunjukkan bahwa strain A66 dari *Actinomyces* laut mampu merusak biofilm *V. harveyi* (yang berarti merusak sistem *quorum sensing*), hal ini karena adanya enzim yang bisa mencerna senyawa dalam biofilm, seperti eksopolisakarida dan protein, atau produk alami bisa bertindak menghancurkan biofilm. Untuk pengaplikasian secara massal dapat dikombinasikan antara biofilm penghambat / perusak biofilm *V. harveyi* dengan antibiotik konvensional.

Berkaitan dengan sistem mikrobial *quorum sensing* juga terdapat sistem *quorum quenching* yang membantu dalam proses pertahanan terhadap penyakit, karena *quorum quenching* bertujuan untuk menutup ekspresi faktor virulensi bakteri patogen dan membatasi pertumbuhan sel serta berpotensi mengatasi toksisitas obat, infeksi parah, dan resistensi antibiotik. Enzim QQ telah diidentifikasi pada sejumlah bakteri dan telah menunjukkan kemampuan yang cukup sebagai *quorum quenchers* sejak AHL-lactonase AI-2 pertama kali diidentifikasi dari spesies *Bacillus* untuk melemahkan virulensi. QQ mampu dikembangkan sebagai teknik untuk menghancurkan patogen dalam membentuk kepadatan sel dan menonaktifkan atau mengurangi keganasan ekspresi virulensi. Kemampuan ini dapat dipastikan bahwa host memiliki kemampuan untuk membasmi patogen secara alami melalui fungsi sistem kekebalan tubuh yang normal, sehingga mengatasi infeksi patogen. Dalam sistem QQ terdapat dua kelas enzim. Kelas I didefinisikan sebagai enzim pemecah AHL molekul, yang berisi AHL-lactonase, AHL-asilase dan paraoxonase. Kelas II

adalah enzim yang mengurangi karbonil untuk hidroksil, yang berisi oksidoreduktase. (Fang et al.,2013).



Gambar 2. Model Quorum Sensing *V. harveyi* (Pompeani et al.,2008)

Berdasarkan Pompeani et al. (2008), sinyal yang digunakan dalam quorum sensing bakteri ada tiga macam, yaitu sinyal CAI-1 yang disintesis oleh CqsA dan menghasilkan senyawa kimia yang belum mampu diidentifikasi, sinyal AI-1 menghasilkan senyawa kimia berupa AHL (*Acyl Homoserine Lactone*) yang disintesis oleh LuxM, dan sinyal AI-2 yang menghasilkan senyawa kimia berupa *furanosyl borate diester* disintesis oleh LuxS. Ketiga sinyal tersebut memiliki sensor yang berbeda, sensor CAI-1 adalah CqsS, untuk AI-1 memiliki sensor berupa LuxN, sedangkan AI-2 memiliki sensor kompleks berupa LuxP dan LuxQ. Fungsi sensor adalah untuk mendeteksi sinyal yang dikeluarkan bakteri dalam jumlah banyak maupun sedikit dan sinyal yang dikeluarkan tersebut mempengaruhi kepadatan sel bakteri, bila sinyal yang dikeluarkan itu tinggi maka kepadatan sel juga dalam keadaan tinggi, begitupun sebaliknya. Bila sinyal yang terdeteksi oleh sensor dalam jumlah sedikit LuxU akan mengeluarkan fosfat dan

memberi sinyal pada LuxO yang akan mengikat Hfq untuk mengacaukan pengkodean mRNA dalam transkripsi LuxR pada gen target. Jika sinyal yang terdeteksi tinggi, maka saat AI (*autoinducer*) disintesis reseptor akan berubah menjadi fosfat hingga mengatur pengkodean 50 gen termasuk di dalamnya adalah pengkodean faktor *luciferase* dan faktor virulensi, sehingga bakteri mampu bersifat patogen.

Bakteri *V. harveyi* merupakan golongan bakteri yang juga memproduksi sinyal AI-2 (*autoinducer-2*). Prekursor sinyal AI-2 pada bakteri adalah 4,5-dihidroxy-2,3-pentanedione (DPD), dan produk hasil dari reaksi tersebut adalah enzim LuxS. DPD tersusun atas molekul yang sangat reaktif dan menimbulkan reaksi spontan bila ditambahkan dalam sebuah larutan. Molekul yang berbeda tetapi masih termasuk golongan DPD akan dikenali oleh bakteri sebagai sinyal AI-2, dan dua sinyal DPD yang mampu menjebak sinyal aktif AI-2 adalah LuxP yang terdapat pada *V. harveyi* dan LsrB dari bakteri *S. typhimurium*. Pada *V. harveyi* sinyal AI-2 dibentuk pada proses siklus, hidrasi, dan penambahan borat dalam DPD (Xavier *et al.*, 2007).

2.7 Homoserine Lactone (HSL)

Menurut Vijayalakshmi (2014), HSL adalah sinyal yang digunakan oleh bakteri gram negatif sebagai pengkoordinasi dari sel satu ke sel yang lain sehingga membentuk *quorum sensing*. Bakteri gram negatif menggunakan *autoinducer homoserine lactone* yang disintesis oleh homolog LuxI dan homolog LuxR. LuxR homolog mengkode protein aktivator transkripsi yang mendeteksi HSL. Model *quorum sensing* ini telah digunakan oleh lebih dari 30 spesies bakteri gram negatif.

Klerebezhem (1997) menyatakan bahwa beberapa bakteri gram negatif mensintesis *N-asil homoserin lactone* (AHLs), yang berfungsi sebagai sinyal

komunikasi dan mekoordinasi koloni bakteri untuk membentuk kepadatan tertentu. HSL yang diproduksi dalam *bioluminescence* (*lux*) *Vibrio fischeri* dan sintesis molekul sinyal *N*-(3-oxohexanoyl)-*L*-homoserine lactone (OHHL) membutuhkan protein LuxI. Protein LuxR dapat mengikat molekul OHHL, sehingga menjadi aktivator pada proses transkripsi dalam memecah kepadatan sel dan untuk ekspresi gen *bioluminescence*. (Salmond *et al.*, 1995).

Menurut Defoirdt *et al.*, (2008), pengontrolan sistem *quorum sensing* yang dilakukan oleh *V. harveyi* dapat digunakan dengan mutan dari salah satu sinyal yang digunakan oleh bakteri *quorum sensing* sebagai sinyal untuk menghubungkan antara sel satu dengan yang lainnya, yaitu AI-2. Inaktivasi AI-2 sering disebut sebagai LuxS. Mekanisme ini terjadi karena AI-2 mensintesis *Sanhydroribosyl-L-homocysteine* and *S-homoribosyl-L-cysteine*, kedua senyawa tersebut merupakan substrat dari *S-ribosyl-L-homocysteine* yang telah dilemahkan menggunakan LuxS dan dapat menghambat AI-2 dalam memproduksi enzim (Alfaro, 2004).

2.8 GC/MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

Menurut Sukmajaya *et al.* (2012), kromatografi gas-cair merupakan cara/teknik yang memungkinkan analisis kualitatif dan kuantitatif suatu senyawa. Dalam kromatografi gas, sampel cairan disuntikkan ke dalam ruang injeksi dengan jarum injeksi melalui klep khusus. Sampel akan terbawa melalui kolom. Di dalam kolom, sampel akan dipisahkan satu dengan yang lainnya dan kemudian diteruskan ke detektor berupa signal/isyarat listrik. Selanjutnya akan direkam berupa kode-kode dari senyawa kimia yang terdeteksi dari bahan. Puncak-puncak spektrum tersebut akan dilewatkan ke spektrometer massa untuk mengetahui massa molekul relatif (Mr) dan pola fragmentasinya (Lafferty, 1988).

Kromatografi gas spektrometri massa (GCMS) merupakan instrumen analisis hasil kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa, kromatografi gas memiliki kemampuan yang sangat baik dalam hal pemisahan dan analisis kuantitatif komponen sedangkan spektrometri massa memiliki kemampuan yang tinggi dalam hal identifikasi atau analisis kualitatif. GC-MS tidak dapat merusak sampel pada saat proses penganalisaan. Sistem kerja GC-MS yaitu berdasarkan perbedaan kepolaran dan massa molekul sampel yang dapat diuapkan. Sampel yang berupa cairan atau gas dapat langsung diinjeksikan ke dalam injektor, jika sampel dalam bentuk padatan maka harus dilarutkan pada pelarut yang dapat diuapkan. Aliran gas yang mengalir akan membawa sampel yang teruapkan untuk masuk ke dalam kolom. Komponen-komponen yang ada pada sampel akan dipisahkan berdasarkan partisi diantara fase gerak (gas pembawa) dan fase diam (kolom). (Karliawan, 2009).

GC-MS merupakan alat teknik instrumental yang dinamis untuk memisahkan dan mendeteksi senyawa-senyawa organik yang mudah menguap. Semua jenis bahan, senyawa penyusunnya mampu dideteksi dengan alat ini. Dengan syarat pelarut yang digunakan untuk bahan yang akan diujikan menggunakan jenis pelarut yang memiliki titik didih tinggi sehingga mudah menguap. Teknik identifikasi senyawa menggunakan GC-MS tergolong identifikasi yang akurat dengan batas deteksi yang lebih rendah, sehingga senyawa beserta fragmen-fragmennya mampu terdeteksi menggunakan alat ini. Komponen utama penyusunnya adalah kontrol dan penyedia gas pembawa, ruang suntik sampel, kolom yang diletakkan dalam oven yang dikontrol secara termostatik, sistem deteksi dan pencatat (*detector* yang berfungsi mengubah sinyal gas menjadi sensor elektronik yang menghasilkan analisis kualitatif dan kuantitatif sampel dan *recorder* sebagai perekamnya) (Rohman, 2009), dan alat MS (*Massa Spectrometry*) yang berfungsi sebagai tempat penembakan elektron

terhadap sampel, sehingga diketahui setiap puncak yang terdapat dalam kromatogram untuk dibuat data spektranya, serta komputer sebagai pengolah datanya kemudian dicatat oleh *recorder* berupa gambar antara limpahan relatif (*abundance*) melawan *m/e* beserta struktur kimianya (Sitorus, 2009).



3. MATERI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- GC-MS
- Botol sampel
- Gelas ukur 1000 ml
- Pompa vacum
- Kamera
- Mikropipet 0,5-10 dan 10-100 μ l
- Yellow tip dan blue tip
- Eppendorf
- Falcon
- Corong
- Baskom
- Washing bottle
- Coolbox
- Pisau
- Erlenmeyer 250 ml
- Shaker
- Rotary evapometer 60 rpm
- Waterbath
- Beaker glass
- Freezer
- Vortex mixer

3.1.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Tinta cumi (*Loligo* sp.) 50 ml
- Metanol 5 % 150 ml
- Aquades pH 7
- Aluminium foil
- Alkohol 70 %
- Tisu
- Kertas saring

- *Thermofreezing*
- Kertas label
- Plastik klip

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Tujuan penelitian deskriptif menurut Umar (2004), yaitu untuk menggambarkan sifat sesuatu yang sedang berlangsung dan memeriksa sebab-sebab gejala yang diselidiki. Sedangkan menurut Sangadji dan Sopiah (2010), metode deskriptif adalah metode yang menekankan pada penggambaran dan menginterpretasikan suatu obyek penelitian tanpa melakukan percobaan pada obyek tersebut, sehingga hanya bersifat pengamatan. Tujuan dari penelitian deskriptif adalah untuk membuat gambaran secara sistematis dan eksploratif yang mewakili obyek dari penelitian. Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data kuantitatif, yaitu data yang berbentuk angka, yang dapat dihitung dan dinalisa lebih lanjut (Sugiyono, 2008).

3.3 Prosedur Penelitian

- **Persiapan Pengambilan Kantong Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*)**

Tahap awal dari penelitian ini adalah pengambilan tinta dari cumi-cumi, Cumi-cumi yang digunakan diperoleh dari Pantai Lekok, Pasuruan, Jawa Timur dalam keadaan segar. Pengambilan tinta cumi dilakukan dengan cara dipotong bagian mantel (tepatnya pada bagian bawah tubuh cumi-cumi) secara vertikal atau membujur dengan pisau. Diambil kantong tinta dengan pinset untuk menghindari kantong tinta sobek. Karena tinta cumi-cumi komposisinya adalah air. Kantong tinta yang telah diambil diletakkan dalam botol bekas air mineral dan dimasukkan dalam freezer dengan suhu 3°C untuk mencegah tinta rusak.

- **Ekstraksi Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.)**

Proses ekstraksi tinta cumi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Islam Negeri, Malang. Ekstraksi dilakukan dengan diukur tinta cumi dengan gelas ukur sebanyak 150 ml dan methanol sebagai pelarut sebanyak 50 ml. Ekstraksi ini bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam tinta cumi-cumi. Tinta cumi dan methanol dimasukkan dalam erlenmeyer dan dihomogenkan menggunakan shaker $\pm 1/2$ jam. Penggunaan methanol sebagai pelarut karena metanol bersifat polar seperti yang dikatakan oleh Sudarmadji, Haryono, dan Suhardi (2003) dalam Wirda *et al.* (2011), adalah pelarut yang bersifat polar, bahkan daya kepolarannya lebih tinggi daripada etanol dan lebih rendah dari air. lebih bersifat misible (dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi). Pernyataan tersebut didukung oleh Al-Ash'ary *et al.* (2010), metanol mampu melarutkan hampir semua komponen, baik yang bersifat polar, semi polar, maupun non polar sedangkan tinta cumi-cumi komponen yang dominan adalah air yang bersifat polar. Selain itu menurut Ibrahim dan Sitorus (2013), metanol merupakan pelarut yang mempunyai massa molekul 32,04 g/mol, titik didihnya 64,7 °C, titik leleh -97,7 °C, berat jenisnya 0,791 g/ml, larut sempurna dalam air dan tidak membentuk azeotrop. Hasil yang diperoleh dengan menggunakan pelarut murni memberikan hasil dengan kadar air 0,04% . Larutan tersebut didiamkan selama 2 hari dalam lemari pendingin sebagai asumsi bahan aktif yang diinginkan telah diikat. Disaring larutan tersebut dengan corong yang dilapisi kertas saring dan dibantu oleh pompa vacuum untuk mempercepat proses penyaringan. Hasil penyaringan yang berada dalam erlenmeyer diuapkan menggunakan rotary evapometer dengan kecepatan 60 rpm selama $\pm 4,5$ jam. Larutan hasil rotary dipanaskan dengan *waterbath* untuk dipekatkan. Tinta yang sudah pekat dipindahkan ke dalam appendorf dan disimpan dalam lemari pendingin.

- **Pembuatan Stok HSL (*Homoserine Lactone*)**

HSL yang digunakan dalam penelitian ini merupakan HSL sintetis. Bahan ini termasuk dalam salah satu *autoinducer* yang digunakan oleh *V. harveyi* untuk menyatukan sinyal antar sel dengan sel yang lain dalam kepadatannya. Pembuatan stok HSL 4 mM dilakukan dengan pengukuran HSL sebanyak 96,51 µg dan ditambahkan methanol 5 % sebanyak 1000 µl. Dalam stok HSL 4 mM diambil 200 µM dan diencerkan dengan metanol 200 µl. Kemudian diencerkan dalam 6 kali ulangan sehingga terbentuk HSL dengan konsentrasi 0,05 µM dalam 10 ml metanol 5 %. HSL dengan konsentrasi 0,05 µM diambil sebanyak 5 ml untuk dimasukkan dalam vialon dan disimpan dalam freezer -20°C sebelum digunakan untuk menghindari kerusakan dari HSL (*Homoserine Lactone*).

- **Identifikasi Senyawa yang Terkandung dalam Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol dan Senyawa Hasil Reaksi Pemotongan Ekstrak Tinta Cumi-cumi terhadap 3OC8HSL yang dilakukan dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS)**

Pengidentifikasian dengan alat GC-MS menggunakan 2 sampel yaitu sampel ekstraksi tinta cumi-cumi dengan metanol sebanyak 0,001 gr ekstrak tinta cumi-cumi dalam 5 ml metanol 5 % dan sampel 3OC8HSL sebanyak 0,05 µM dalam 5 ml metanol 5 % yang ditembak dengan ekstrak tinta cumi-cumi. Pada saat dilakukan uji, digunakan sampel ekstrak tinta cumi-cumi dengan metanol sebanyak 1 ml dan 3OC8HSL yang ditembak ekstrak tinta cumi-cumi menggunakan perbandingan 1:1. Kemudian dianalisis dengan GC-MS, untuk mengetahui fragmentasi senyawa dari masing-masing sampel dan dibandingkan antara keduanya. GC-MS yang digunakan adalah agilent type 7890 A dilengkapi dengan kolom jenis HP5 ukuran 30 m x 250 µm x 0,25 µm dioperasikan pada suhu detektor 230°C dan suhu inlet 250°C dan digunakan gas helium sebagai fasa geraknya. Alat GC-MS terdiri dari dua komponen alat yaitu GC (*Gas Chromatography*) yang berfungsi sebagai alat pendeteksi suatu senyawa dari

bahan dan akan memecah struktur kimia dari bahan tersebut. Sedangkan MS (*Mass Spectrometry*) adalah alat yang mampu memecah struktur senyawa dari pecahan yang dihasilkan oleh GC menjadi struktur yang paling kecil dan mendeteksi spektrum massa senyawa tersebut untuk mengetahui kelimpahan dan waktu yang diperlukan dalam pendeteksian senyawa tersebut.

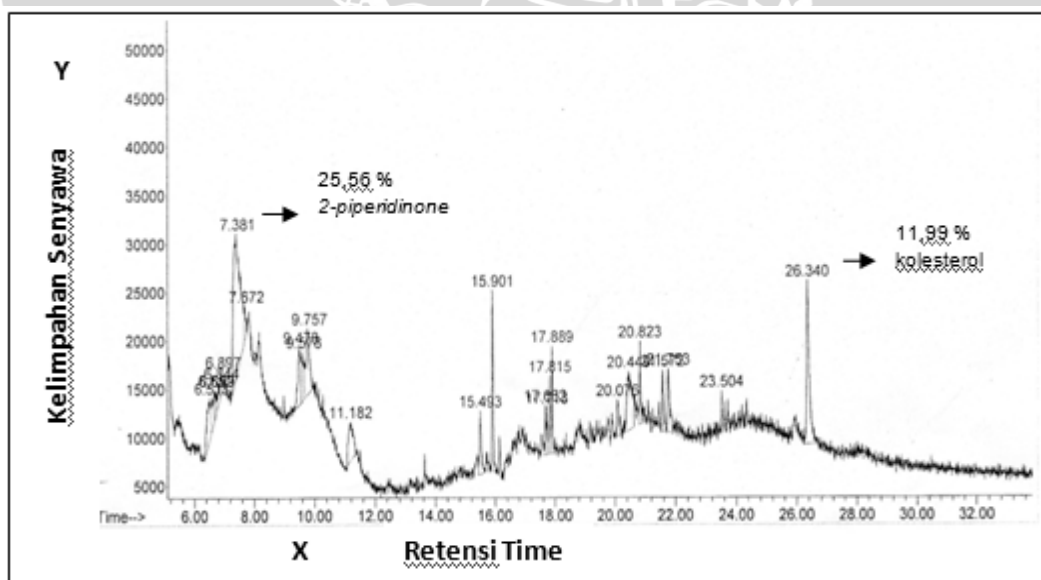
3.4 Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan perbandingan hasil spektrum massa senyawa yang dominan pada hasil uji GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) antara ekstrak tinta cumi-cumi dengan metanol dan HSL (*Homoserine Lactone*) yang ditambahkan dengan ekstrak tinta cumi-cumi yang menggunakan pelarut metanol. Menurut Bakar (2007), analisis data adalah suatu kaedah yang digunakan untuk mengolah data mentah sehingga dapat dipaparkan. Tujuan dari analisa data yaitu untuk menjawab semua kajian yang telah ditetapkan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji GC-MS (*Gass Chromatography-Mass Spectrometry*) Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol

Uji GC-MS (*Gass Chromatography-Mass Spectrometry*) adalah uji yang dilakukan terhadap sampel / bahan untuk mengetahui pecahan senyawa yang menyusun sampel tersebut dan mengetahui spectrum massa serta susunan pecahan yang dihasilkan. Alat GC-MS terdiri dari dua bagian yaitu alat GC (*Gass Chromatography*) yang mampu memecah senyawa menjadi fragmen-fragmen dan alat MS (*Mass Spectrometry*) yang mampu mendeteksi massa molekul relatif ion molekul penyusun suatu senyawa. Hasil dari uji GC-MS menunjukkan kelimpahan senyawa yang diletakkan pada sumbu x merupakan *Retensi Time* yaitu waktu senyawa dan fragmennya dapat terbaca dalam alat GC-MS, sedangkan nilai yang ditunjukkan sumbu y adalah nilai kelimpahan dari senyawa dan fragmen yang telah terbaca. Kromatogram hasil uji GC-MS dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram Uji GC-MS Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol

Berdasarkan gambar tersebut kemudian dilakukan analisa dengan membuka tiap puncak kromatogram untuk mengetahui berat molekul dan rantai

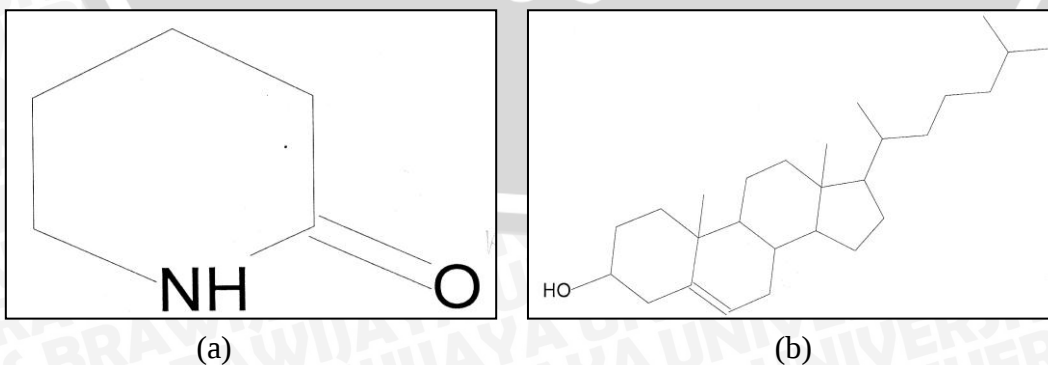
kimia fragmen penyusun suatu molekul yang terdeteksi. Ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) mengandung 24 jenis fragmen organik atau turunannya yang dapat dilihat pada Lampiran 1. Berdasarkan data pada Lampiran 2, dapat diambil beberapa fragmen yang memiliki nilai kelimpahan dengan persen area lebih dari 5 % yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji GC-MS Ekstrak Tinta Cumi-cumi yang diekstrak dengan Metanol.

No. Puncak	Nama Senyawa atau Fragmen	Waktu Retensi	% Area	Golongan
6	2-Piperidinone	7,381	25,56	Piperidinone
10	N-etil-Nmetil-2-propenilamin	9,756	6,16	Amina
13	Asam hexadekanoik, metil ester	15,901	5,40	Ester
19	Trimetil-[2-[2-[2-[2-[2-(-trimetilsililoxietoksi) etoksi] etoksi] etoksi] etoksi] etoksi]	20,45	7,44	Aldehid
24	Cholesterol cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-cholesterol	26,338	11,99	Kolesterol

Keterangan : Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Pelarut Metanol (Sumber : Data Primer)

Berdasarkan data tersebut terlihat senyawa yang terkandung dalam tinta cumi yang nilainya lebih tinggi diantara keempat senyawa adalah golongan *piperidinone* dengan persen area 25,56 % dan kolesterol 11,99 %. Nilai tersebut menunjukkan bahwa senyawa penyusun tinta cumi didominasi oleh senyawa tersebut beserta pecahan-pecahannya.



Gambar 4. Struktur Senyawa Kimia a) *Piperidinone* dan b) *Kolesterol* (Sumber : Anonym, 2013).

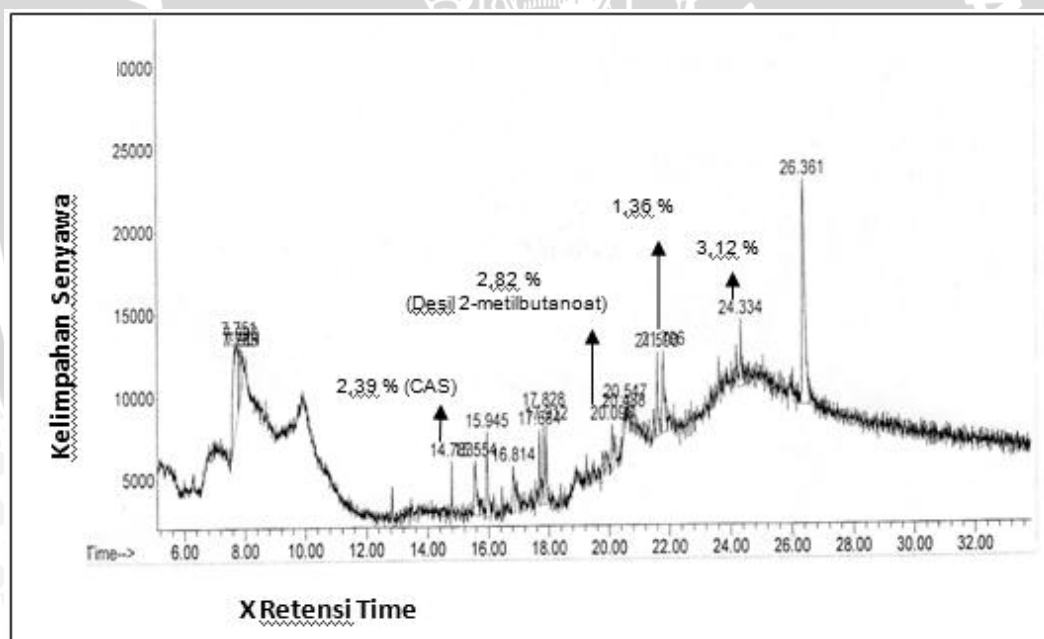
Senyawa *piperidinone* mempunyai rumus kimia C_5H_9NO dengan berat molekul 99,133 mg/mol, titik lebur $38-40\text{ }^{\circ}C$, titik didih pada suhu $256\text{ }^{\circ}C$ dan massa jenisnya 291 g/L (Anonymous, 2013b). Pada rantai kimia yang ditunjukkan Gambar 4 (a) terlihat bahwa penyusun dari *piperidinone* adalah gugus amina yang disimbolkan oleh (NH) dan keton (O) dengan ikatan rangkap dua. Gugus amina merupakan kelompok fungsional yang mengandung tiga substituen sekitar atom nitrogen sentral yang berisi pasangan elektron. Sedangkan rumus kimia dari kolesterol $C_{27}H_{46}O$, dengan massa molar 386,65 g/mol. Massa jenis kolesterol adalah $1,052\text{ g/cm}^3$ dan titik leleh $148-150\text{ }^{\circ}C$ serta titik didih 0.095 mg/L dalam $30\text{ }^{\circ}C$ (Anonymous, 2013b).

Menurut Cheng *et al.* (2013), *2-piperidinone* juga disebut sebagai *γ-valerolactam* merupakan monomer yang banyak digunakan untuk mensintesis polimer dalam dunia industri. Jumlah *piperidinone* dalam ekstrak tinta cumi-cumi mampu berperan sebagai *inhibitor autoinducer Vibrio harveyi* yang memanfaatkan *Autoinducer-1* (AI-1) sebagai sinyal *quorum sensing*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Malladi *et al.*, (2011), bahwa cincin laktam merupakan isoster yang lebih stabil daripada cincin lactone sehingga dapat menjadi prekursor bagi cincin *lactone*. Selain itu, c-laktam dimodifikasi sedemikian rupa sehingga menyerupai *S-ribosil-L-homosistein*, yang berfungsi untuk mengatur *quorum sensing* melalui biosintesis LuxS yang dimediasi oleh AI-2.

4.2 Uji GC-MS (Gass Chromatography-Mass Spectrometry) *N-octanoyl-L-homoserine lactone* (3OC8HSL) Sintetis yang ditembak dengan Ekstrak Tinta Cumi-cumi yang Menggunakan Pelarut Metanol

N-octanoyl-L-homoserine lactone (3OC8HSL) merupakan salah satu golongan senyawa *lactone*, yang digunakan oleh bakteri *quorum sensing* (khususnya bakteri gram negatif) untuk berkomunikasi antara sel satu dengan yang lain, salah satu golongan bakteri gram negatif yaitu bakteri *V. harveyi*.

Beberapa jenis *autoinducer* yang digunakan oleh bakteri gram negatif antara lain, *N*-butanoyl-*L*-homoserine lactone (C4HSL), *N*-hexanoyl-*L*-homoserine lactone (C6HSL), 3-oxohexanoyl-*L*-homoserine lactone (3OC6HSL), *N*-octanoyl-*L*-homoserine lactone (C8HSL), 3-oxooctanoyl-*L*-homoserine lactone (3OC8HSL), *N*-decanoyl-*L*-homoserine (C10HSL), *N*-dodecanoyl-*L*-homoserine (C12HSL) dan *N*-tetradecanoyl-*L*-homoserine lactone (C14HSL) (Huang et al., 2012). Sedangkan jenis HSL yang digunakan dalam penelitian ini adalah *N*-octanoyl-*L*-homoserine lactone (3OC8HSL) sintesis yang berfungsi sebagai pengganti sinyal yang dikeluarkan oleh *V. harveyi* dalam poses *quorum sensing*. Hasil dari uji GC-MS 3OC8HSL yang ditambahkan ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol dapat dilihat pada kromatogram yang ditunjukkan oleh Gambar 5.



Gambar 5. Kromatogram 3OC8HSL Sintesis yang ditambahkan Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.)

Berdasarkan hasil pada kromatogram tersebut selanjutnya dilakukan analisa dan terdapat 22 fragmen yang terdeteksi dengan masing-masing kelimpahan yang berbeda-beda. Dua diantaranya memiliki nilai persen area ≥ 5 % dan 4 fragmen senyawa diantaranya merupakan fragmen yang hanya terdeteksi pada hasil uji *N*-octanoyl-*L*-homoserine lactone (3OC8HSL) sintesis

yang ditembak ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol. Kelimpahan fragmen yang terdeteksi paling besar pada uji GC-MS menunjukkan tingkat kestabilan fragmen tersebut. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sitorus (2009), fragmen dengan jumlah kelimpahan yang cukup besar dalam suatu bahan keberadaannya stabil dalam molekul tersebut, sehingga terdeteksi dengan nilai puncak yang tinggi dibandingkan dengan fragmen lain yang mempunyai nilai kelimpahan yang cukup rendah yang ditampilkan pada Lampiran 7. Dari sejumlah fragmen yang terdeteksi, pada Tabel 2 berikut ditunjukkan fragmen yang terdeteksi setelah dilakukan penembakan 3OC8HSL sintesis oleh ekstrak tinta cumi-cumi.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Uji GC-MS 3OC8HSL yang ditambahkan Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Pelarut Metanol.

No. Puncak	Nama Senyawa	Waktu Retensi	% Area	Golongan
6	Oktadekametil siklononasiloxan, oktadekametil (CAS)	14,786	2,39	-
13	Desil 2-metilbutanoat	20,096	2,82	-
19	Cis-3, 3a, 4,5,6,7-hexahidro-7-(2-tienil) sikloheksa [c] isoxazol	23,603	1,36	-
21	Fenol, 2,2'-[1-metil-1,2 etanedil] bis (nitrilometilidi)]bis-	24,336	3,12	Fenol

Keterangan : senyawa yang terdeteksi setelah dilakukan penambahan ekstrak tinta cumi-cumi pada 3OC8HSL. Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol dan ditambahkan AHL (Sumber : Data Primer)

Berdasarkan hasil dari kromatogram antara ekstrak tinta cumi-cumi dengan metanol dan *N-octanoyl-L-homoserine lactone* (3OC8HSL) sintesis yang ditembak ekstrak tinta cumi-cumi melalui uji GC-MS terlihat bahwa senyawa yang terdeteksi dari sampel adalah keempat senyawa diatas. Terdeteksinya keempat senyawa tersebut mengindikasikan hasil reaksi dari 3OC8HSL yang ditambahkan ekstrak tinta cumi-cumi. Hasil persen area tertinggi dari uji GC-MS reaksi keduanya adalah golongan fenol. Sedangkan, tiga senyawa lain golongannya belum dapat diidentifikasi.

4.3 Fragmentasi Senyawa Hasil Reaksi HSL (*Homoserine Lactone*) dengan Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.)

Uji GC-MS antara *autoinducer* sintetis 3OC8HSL yang merupakan golongan senyawa *lactone*, setelah dilakukan penembakkan dengan ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) menghasilkan pecahan senyawa yang ditampilkan pada Tabel 2 diatas. Berdasarkan data Tabel 2 diatas menunjukkan bahwa terdapat 4 senyawa yang terdeteksi oleh GC-MS dari sampel 3OC8HSL sintetis yang ditembak oleh ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan senyawa tersebut tidak ditemukan pada hasil uji GC-MS ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol dan tanpa penambahan HSL. Diantara keempat senyawa tersebut terdapat fenol yang memiliki kelimpahan 3,12% dan kelimpahannya tertinggi diantara keempat senyawa lain. Kelimpahan fenol dengan nilai tersebut tergolong tinggi, menurut Velmurugan *et al.* (2012), dengan menggunakan ekstrak ekstrak bunga biduri (*Calotropis procera*) yang mengandung fenol dapat menghambat aktifitas *V. harveyi* dengan dosis minimum 60 µg/ml sedangkan bersifat bakteriosidal pada dosis 120 µg/ml.

Menurut Maryani *et al.* (2002), penelitian mengenai kandungan fenol dari buah mangrove terhadap aktivitas patogenitas bakteri *V.harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon*) membuktikan bahwa ekstraksi buah mangrove yang mengandung fenol mampu meningkatkan *Survival Rate* (SR) pada udang >70 %. Sarida *et al.* (2010), menyatakan fenol mampu merusak membran sel, menginaktivasi enzim, dan mendenaturasi protein. Kandungan fenol tinggi memiliki kemampuan menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri sedangkan dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan dan juga

lipopolisakarida, yang fungsinya melindungi sel (Austin dan Zhang, 2006; Owens dan Busico-Salcedo, 2006 *dalam* Saptiani *et al.*, 2012).

Keberadaan bahan aktif berupa *2-piperidinone* (γ -valerolactam) dan fenol sebagai salah satu hasil reaksi antara ekstrak tinta cumi-cumi dengan HSL, mengindikasikan bahwa ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan pelarut metanol mampu menghambat pembentukan sinyal *quorum sensing* HSL yang dihasilkan oleh bakteri *V. harveyi*. Sesuai pendapat Dong *et al.* (2007), mekanisme penghambatan sinyal *quorum sensing* dilakukan dengan meniru struktur kimia *quorum sensing* seperti halnya *furanone* berhalogen dan AIPs sintesis yang mirip dengan AHL dan AIP sinyal yang kemudian mengganggu sinyal yang sesuai, sehingga *inhibitor* mampu mengikat reseptor atau menurunkan konsentrasi reseptor. Jika reseptor menurun menunjukkan sinyal yang dihasilkan oleh bakteri dalam jumlah sedikit sensor akan mensintesis LuxO dengan dimediasi oleh LuxU sehingga melepas fosfat yang kemudian akan mengikat Hfq untuk mengacaukan pengkodean mRNA dalam proses transkripsi LuxR yang akan mempengaruhi patogenitas faktor virulensi terhadap gen target (Pompeani *et al.*, 2008).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) mampu menjadi *inhibitor quorum sensing Vibrio harveyi* yang ditunjukkan dengan ditemukannya senyawa 2-piperidinone (γ -valerolactam) dari hasil uji GC-MS (Gas Chromatography - Spectrometry Massa) yang sifatnya stabil dan mampu memecah *autoinducer* sintesis bakteri *V. harveyi* berupa senyawa 3-N-octanoyl-L-Homoserine-Lactone (3OC8HSL) sehingga tidak ditemukan senyawa turunan dari *autoinducer* tersebut pada reaksi penembakan ekstrak tinta cumi-cumi terhadap 3OC8HSL.

5.2 Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol mengandung senyawa *piperidinone* yang mampu mensintesis 3OC8HSL sehingga mempunyai potensi sebagai *inhibitor autoinducer Vibrio harveyi*. Maka, perlu dilakukan *uji in vitro dan in vivo* untuk mengetahui diameter daya hambat ekstrak tinta cumi-cumi terhadap *V. harveyi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, T.J. 2006. Virulence of *Vibrio harveyi* possessing and transferable chloramphenicol resistant determinant to larvae of Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* (Decapoda). *Indian Journal of Marine Sciences*. **35**(3) : 275-278
- Al-Ash'ary, M.N., F. M. T. Supriyanti, dan Zackiyah. 2010. Penentuan Pelarut Terbaik dalam Mengekstraksi Senyawa Bioaktif dari Kulit Batang *Artocarpus Heterophyllus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. **1**(2): 150-158
- Alfaro, J.F. , T. Zhang ,D.R.P. Wynn , E. L. Karschner ,and Z.S. Zhou. 2004. Synthesis of LuxS inhibitors targeting bacterial cell-cell communication. *Organic Letters*. **6** (18) : 3043-3046
- Anonymous. 2013a. <http://zipcodezoo.com/Animals>. Diakses tanggal 3 November 2014 Pukul 07.00
- _____. 2013b. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac>. Diakses 27 Januari 2015 Pukul 12.00
- _____. 2014. <http://www.zipcodezoo.com/Animals>. Diakses tanggal 8 November 2014 Pukul 07.00
- Aprianti, D. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Picung (*Pangium Edule Reinw*) dan Pengaruhnya terhadap Stabilitas Fisiko Kimia, Mikrobiologi dan Sensori Ikan Kembung (*Rastrelliger Neglectus*). Skripsi. Universitas Kanjuruhan. Malang. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 77 hlm
- Bakar. 2007. Analisis Data Kuantitatif dan Kualitatif. Graha Ilmu. Yogyakarta. 80 hlm
- Barnes, R.D. 1968. Invertebrata Zoology Second Edition. W.B. Saunders Company. London. 694 hlm
- Bassler, B.L. 1999. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing, *Current Opinion in Microbiology*. **2** : 582-587.
- Cheng, J.,C. Chen, K.W. Kristopher, S.K. Manna, M. Scerba, F.K. Friedman, H. Luecke, J.R. Idle, and f.J. Gonzalez. 2013. Identification of 2-Piperidone as a biomarker of CYP2E1 activity through metabolomic phenotyping. *J. Toxicology Sciences*. **135** (1) : 37-47
- Croxatto, A. 2006. VanT, A central regulator of quorum sensing signalling in *Vibrio anguillarum*. Artikel. UMEA University. Sweden. 96 hlm
- Defoirdt, T., N. Boon, P.Sorgeloos, W. Verstraete, and P. Bossier. 2008. Quorum sensing and quorum quenching in *Vibrio harveyi*: lessons learned from in vivo work. *The ISME Journal*. **2** :19–26

- Derby, C.D. 2014. Cephalopod Ink: Production, Chemistry, Functions and Applications. *Mar. Drugs*. **5**(12) : 2700-2730
- Derec, M.N. 2009. Preferensi Larva Cumi-cumi Sirip Besar terhadap Perbedaan Warna dan Tingkat Intensitas Cahaya pada Waktu Pengamatan yang Berbeda. Skripsi. IPB. Bogor. 1-173
- Dong, Yi-Hu, Lian-Hui Wang, and Lian-Hui Zhang. 2007. Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Phil. Trans. R. Soc. B* **362** : 1201–1211
- Ermawati, E. F. 2010. Efek Antipiretik Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* L) pada Tikus Putih Jantan. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 45 hlm
- Evan, Y. 2009. Uji Ketahanan Beberapa Strain Larva Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. Skripsi. IPB. Bogor. 44 hlm
- Fang C., Yuxin G., Xiaoyi C., Zhimin Y., and Xianzhen L. 2013. Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection. *International J. Molecular Science*. **14** :17477-17500
- Feliatra.1999. Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* sp.) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau. *Jurnal Natur Indonesia* **1**(1): 28 – 33
- Girija, S. A. S., V. Priyardharshini J., P.Suba K., Hariprasad P., dan Raguraman R. 2012. Antibacterial of ink squid ink on ESBL producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. **4**(41) : 338-343
- Gunarso dan Mansyur, A. 2010. Penambahan Tepung Tapioka pada Budidaya Udang Penaeid di Tambak. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. 731-735
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit Bakterial pada Budidaya Krustasea serta Cara Penanganannya. *Jurnal Oseana*. **28** (3) : 1-10
- Ibrahim, S. dan M. Sitorus. 2013. Teknik Laboratorium Kimia Organik. Graha Ilmu. Jakarta. 98 hlm
- Ismail, T., Z.A. Muchlisin, N. Fadli, dan I. Setiawan. 2013. Kebiasaan Makan dan Komposisi Makanan Tiga Species Cumi (*Loligo edulis*, *Sepioteuthis lessoniana* dan *Sepia officinalis*) Hasil Tangkapan Nelayan dari Perairan Pantai Utara Provinsi Aceh. *Departemen Perikanan dan Kelautan* **2**(2) : 97-103
- Karliawan, A. 2009. Perubahan Senyawa Hidrokarbon Selama Proses Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi Menggunakan Kromatografi Gas Spektrofotometri Massa. Skripsi. IPB. Bogor. 60 Hlm

- Klerebezhem, M., L.E.N. Quadri, O.P. Kulpers, and W.M. de Vos. 1997. Quorum sensing by peptide pheromones and two component signal-transduction systems in gram positive bacteria. *Molecular Microbiology*. **24**(5) : 895-904
- Kurniawan, S. Lestari, dan S. Hanggita R.J. 2012. Hidrolisis Protein Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp) dengan Enzim Papain. *Jurnal Fistech* **1**(1) : 41-54
- Lafferty, F. W. 1988. Interpretasi Spektra Massa, a.b. dan Hardjono Sastrohamidjojo. Gajah Mada University Press Edisi 3. Yogyakarta. 22 hlm
- Liu, H., P. Luo, S. Chen, and J. Shang. 2011. Effects of Squid Ink on Growth Performance, Antioxidant Functions and Immunity in Growing Broiler Chickens. *Journal Animal Science*. **24** (12) : 1752-1756
- Malladi, V.L.A.,A.J. Sobczak, N. Maricic, S.K. Murugapiran, L. Schneper, J. Makemson, K. Mathee, S.F. Wnuk. 2011. Substituted lactam and cyclic azahemiacetals modulate *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. *J. Bioorganic and medicinal Chemistry*. **19** : 550-5506
- Maryani, D. Dana, dan Sukenda. 2012. Peranan Ekstrak Kelopak dan Buah Mangrove *Sonneratia Caseolaris* (L) terhadap Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fab.). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **1**(3) : 129-138
- Mirbakhsh, M. A. Sepahy, A. Afsharnasab, M. Khanafari, A. Razavi, M.R. 2013. Molecular Identification of *Vibrio harveyi* from Larval Stage of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Boone (Crustacea : Decapoda) By Polymerase Chain Reaction and 16S rDNA Sequencing *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. **13**(2) : 384-393
- Mohanraju, D. B. Marri, P. Karthick, S. Narayana, K. N. Murthy Dan Ch. Ramesh. 2013. Antibacterial activity of certain Cephalopods from Andamans, India *R.International Journal Of Pharmacy And Biological Science*. **3**(2) : 450-455
- Nasi, L., S. B. Prayitno, dan Sarjito. 2011. Kajian Bakteri Penyebab Vibriosis pada Udang secara Biomolekuler. 22 hlm
- Nurfadillah. 2013. Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. Skripsi. Universitas Hassanudin. Makassar. 48 hlm
- Pompeani, A.J.,J.J. Irgon, M.F. Berger,Martha L. Bulyk, N.S. Wingreen, and B.L. Bassler. 2008. The *Vibrio harveyi* master quorum-sensing regulator, LuxR, a TetR-type protein is both an activator and a repressor: DNA recognition and binding specificity at target promoters. *J. Molecular Biology*. **70**(1) : 76-88
- Prabawati, S.Y. 2005. Intisari Analisis Asam Amino dalam Cumi-cumi (*Todarodes pacificus*). *Jurnal Kimia*. **1**(2):169-179

- Pranoto, E.N., W.F. Ma'ruf, dan D. Pringgenies. 2012. Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Perikanan*. **1**(2) : 1-8
- Ransangan, J., T. M. Lal, dan A. H. Al-Harbi. 2012. Characterization and experimental infection of *Vibrio harveyi* isolated from disease Asian Seabass (*Lates calcariver*). *Malaysian Journal of Microbiology*. **8**(2) : 104-115
- Rohman, A. 2009. Kromaografi untuk Analisis Obat. Graha Ilmu : Yogyakarta. 246 hlm
- Rudiana, E. dan D. Pringgenies. 2004. Morfologi dan Anatomi Cumi-Cumi *Loligo duvauceli* yang Memancarkan Cahaya. *Ilmu Kelautan*. **9** (2) : 96 - 100
- Salmond, G. P. C., B. W. Bycroft, G. S. A. B. Stewart, and P. Williams. 1995. The bacterial 'enigma': cracking the code of cell-cell communication. *Mol. Microbiol.* **16**:615–624.
- Sangadji, E. M dan Sopiah. 2010. Metodologi Penelitian: Pendekatan Praktis dalam Penelitian. Penerbit ANDI: Yogyakarta. 303 hlm
- Saptiani, G., S. B. Prayitno, dan S. Anggoro. 2002. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Pertumbuhan *Vibrio harveyi* secara *In vitro*. *Jurnal Veteriner*. **13**(3): 257-262
- Schauder, S., K. Shokat, M. G. Surette and B. L. Bassler. 2001. The LuxS family of bacterial autoinducers : biosynthesis of a novel quorum - sensing signal molecule. *Micobiology Molecular* **41**(2) : 63–476
- Septianingsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* LamK.). Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 43 hlm
- Sitorus, M. 2009. Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik. Graha Ilmu. Yogyakarta. 96 hlm
- Sugiyono. 2008. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R & D. Alfabeta : Bandung : 380 hlm
- Sukmajaya, I G. P. A. P. T., N. M. Puspawati, dan A. A. Bawa Putra. 2012. Analisis Kandungan Minyak Atsiri Daun Tengkulun (*Protium Javanicum* Burm.F.) dengan Metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *Jurnal Kimia* **6**(2): 155-162.
- Suwignyo, S.,B. Widigdo, Y. Wardiatno, dan M. Krisanti. 2005. Avertebrata Air Jilid 1. Penebar Swadaya : Jakarta. 80 hlm
- Trianto, A., E. Wibowo, Suryono, R. Sapta S. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. **9**(4) : 186-189

Umar, H. 2004. Metode Riset Ilmu Administrasi. PT Gramedia Pustaka Umum : Jakarta. 242 hlm

Velmurugan, S.,V. T. Viji, M. M. Babu, M. J. Phunita, T. Citarasu. 2012. Antimicrobial effect of Calotropis procera active principle against microbial pathogens isolated from shrimp and fishes. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 812-817

Vijayalakshmi. 2014. Quorum Sensing in Gram-negative and Gram-positive bacterial systems. School of Chemical and Biotechnology SASTRA University. Bangladesh. 10 hlm

Wirda, Z., H. Halim, T. Millati dan R. Zulhidiani. 2011. Pengaruh Berbagai Jenis Pelarut dan Asam terhadap Rendemen Antosianin dari Kubis Merah (*Brassicaoleraceae capitata*). *Agroscientia* : **18**(2) : 57-63

Xavier, K.B.,S.T. Miller, W. Lu, J.H. Kim, J. Rabinowitz, I. Pelczer, M.F Semmelhack, and B.L. Bassler. 2007. Phosphorylation and Processing of the Quorum-Sensing Molecule Autoinducer-2 in Enteric Bacteria. *Acs Chemical Biology*. **2**(2): 128-136

Yanto, H. 2008. Diagnosa dan Identifikasi Penyakit Udang Asal Tambak Intensif dan Panti Benih di Kalimantan Barat. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. **7**(1) : 17 – 32

Yanuhar, U. 2011. Respon Immun Sel Interleukin -4 (Il-4) pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang dipapar Protein Imunogenik *Vibrio harveyi*. *Jurnal Kelautan*. **4**(2): 25-34

Yasin, M. 2013. Prospek Usaha Budidaya Udang Organik Secara Polikultur. *Jurnal Ilmiah AgriBA*. **1** : 86-99

You, Jian-Lan, Xue Xiao-Li, Li-Xiang Chao, X. Lu, J. Wang, Li-Xin Zhang, and S. Zhou. 2007. Inhibition of *Vibrio* biofilm formation by a marine actinomycete strain A66. *Appl Microbiol Biotechnol* **76** :1137–1144

Zhong, J., Guang W., J. Shang , J. Pan, K. Li, Y. Huang, danH. Liu. 2009. Protective Effects of Squid Ink Extract Towards Hemopoietic Injuries Induced by Cyclophosphamine. *Marine Drugs*. **7** : 9-18

Lampiran 1. Puncak Kromatogram Ekstrak Tinta Cumi-cumi dengan Metanol yang diuji GC-MS

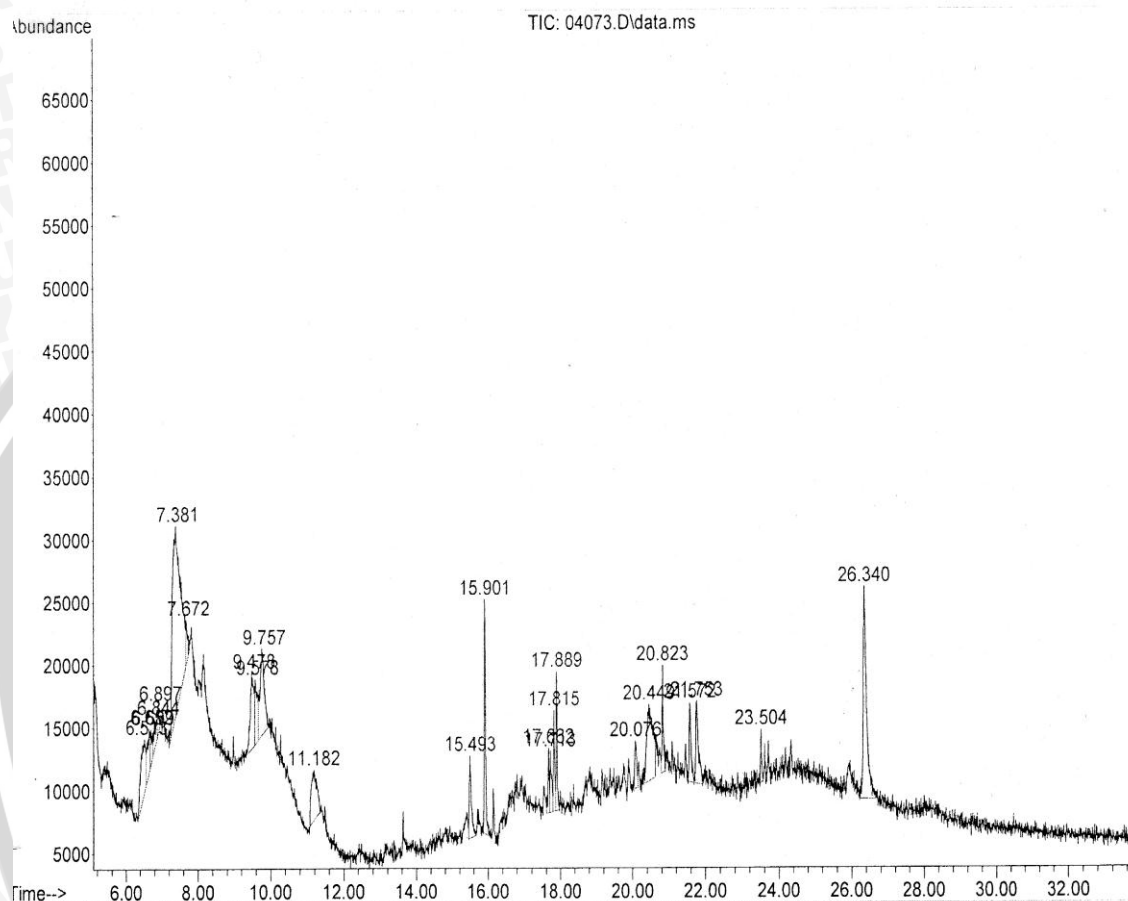
No. Puncak	Nama Senyawa	Waktu Retensi	% Area
1	4-metil-N-[4'hidroksi-4'-metilpen-2'-yn-1'yl]-N-(prop-2ynyl) benzenasulfonam	6,512	4,58
2	Asam fosfonik, (fenilmetil)-dietil ester dietilbenzilfosfonat	6,655	1,93
3	1,4-butanadiamin,N,NN'-bis[3-(2-oxo-3-oxazolidinil) propel]-N,N-bis(4-metilpeni	6,689	1,03
4	1,3-pronanediamin, N, N, N', N'-tetrametil-bis [(dimetilamino) metil] metana	6,843	1,12
5	1,3-pronanediamin, N, N, N', N'etrametil-bis [(dimetilamino) metil] metana	6,895	0,64
6	2-Piperidionine	7,381	25,56
7	2-piperidinon 2 piperidinon.alfa-piperidinon.delta.-valerolactam	7,673	1,28
8	Sikloheptana	9,476	4,47
9	1,3-dimetil-3-Nbutildiazirridin 3-butil-1,3-dimetildiazirridine	9,579	2,64
10	N-etil-Nmetil-2-propenilamin	9,756	6,16
11	(1R-(1 α ,3 β ,4 β))-1-isopropenil-4-metil-1,3-siklohexanidiol 3 asetat	11,181	4,37
12	Asam karbon, dodesil1,2,2-trikloroetil ester	15,495	2,92
13	Asam hexadekanoik, metil ester	15,901	5,4
14	Asam cis-vaccenic, 11- asam oktadekanoic , 11-asam oktadenoik	17,664	1,39
15	Cis-9asam hexanoic	17,715	1,53
16	Oleil alcohol, trifloroasetat	17,812	2,13
17	Asam heptadekanoic, 14-metil-,metil ester metil 14-metilheptadekanoat	17,887	2,54
18	Asam oktadekanoic, 3-hidroksi-metil ester metil 3-hidroksidekanoat	20,078	1,63
19	Trimetil-[2-[2-[2-[2-[2-(-trimetilsililoxietoksi) etoksi] etoksi] eto	20,45	7,44
20	Butil 4, 7, 10, 13, 16, 19-dokosaheksanoat	20,822	2,23
21	Silane, dimetil [(metilsilil) metil] 2,4-disilapentana,2-metil	21,572	2,42
22	Metil 3-hidroksitetradecanoat asam tetradecanoic, 3-hidroksi-,metil ester	21,755	3,74
23	3,5-dimetilbenzaldehyd thiocarbomoilhidrazon	23,506	0,87
24	Cholesterol cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-(-)-cholesterol	26,338	11,99

Lampiran

2.

Lanjutan

Sample Name: ekst tinta (metanol)
 Info : Unbraw
 Number: 1



Lampiran 3. Lanjutan

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\
 Data File : 04073.D
 Acq On : 19 Nov 2014 11:36
 Operator : che2
 Sample : ekst tinta (metanol)
 Misc : Unbraw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	6.512	4.58	C:\Database\W9N11.L 4-Methyl-N-[4'-hydroxy-4'-methylpe nt-2'-yn-1'-yl]-N-(prop-2-ynyl)ben zenesulfonam 1-(2-Nitroanilino)-1-deoxy- .alpha.- d-ribofuranose Benzene, 3-butanyl- \$\$ 1-Butene, 4 -phenyl- \$\$ 1-Phenyl-3-butene	478455	998478-45-5	43
				379789	294669	06-0
				39546	000768-56-9	27
2	6.655	1.93	C:\Database\W9N11.L Phosphonic acid, (phenylmethyl)-, diethyl ester \$\$ Diethyl benzylpho sphionate PHENETHYLAMINE, 2- Benzeneethanamine (CAS) \$\$ Pheneth ylamine \$\$ 2-Phenylethylamine	260132	001080-32-6	27
				26465	998026-46-5	25
				26418	000064-04-0	22
3	6.689	1.03	C:\Database\W9N11.L 1,4-Butanediamine, N,N'-bis[3-(2-ox o-3-oxazolidinyl)propyl]-N,N'-bis(4 -methylpheny Tropylum tetrafluoroborate \$\$ Cyc loheptatrienylum, tetrafluorobora te(1-) 2-Benzyl-2-methyl-1,3-propanediol	806662	013621-89-1	35
				124608	027081-10-3	27
				131637	998131-63-7	22
4	6.843	1.12	C:\Database\W9N11.L 1,3-Propanediamine, N,N,N',N'-tetr amethyl- \$\$ Bis[(dimethylamino)met hyl]methane 1,3-Pentanediamine 1,3-Pentanediamine	37127	000110-95-2	35
				12496	000589-37-7	27
				12495	000589-37-7	27
5	6.895	0.64	C:\Database\W9N11.L 1,3-Propanediamine, N,N,N',N'-tetr amethyl- \$\$ Bis[(dimethylamino)met hyl]methane PENTAMETHYL-DIPROPYLENETRIAMINE [2,7-2H2]-1-(Methanesulfonyloxy)-8 -(tetrahydropyran-2'-yloxy)octane	37128	000110-95-2	35
				184182	066537-05-1	35
				485492	998485-49-2	27
6	7.381	25.56	C:\Database\W9N11.L 2-Piperidinone \$\$ 2-Piperidone \$\$.alpha.-Piperidone \$\$.delta.-Vale rolactam 2-Piperidinone (CAS) \$\$ 2-Piperido ne \$\$ VALEROLACTAM \$\$ Valerolactim Phenol-d5	9933	000675-20-7	64
				9931	000675-20-7	59
				7659	998007-65-9	59
7	7.673	1.28	C:\Database\W9N11.L 2-Piperidinone \$\$ 2-Piperidone \$\$.alpha.-Piperidone \$\$.delta.-Vale rolactam Piperidinone (CAS) \$\$ Piperidone \$ \$ PIPERDINONE Piperidinone (CAS) \$\$ Piperidone \$ \$ PIPERDINONE	9935	000675-20-7	53
				9941	027154-43-4	53
				9940	027154-43-4	53

arm.M Wed Nov 19 12:29:03 2014

Page

Lampiran 4. Lanjutan

40

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\
 Data File : 04073.D
 Acq On : 19 Nov 2014 11:16
 Operator : chs2
 Sample : ekst tinta (metanol)
 Misc : Unbrw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pks	RT	Area	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
8	9.476	4.47	C:\Database\W9N11.L Cycloheptane	9685	000291-64-5	30
			1-Nonanol (CAS) \$\$ n-Nonyl alcohol	57871	000143-08-8	27
			\$\$ n-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol			
			2-Heptene \$\$ 2-C7H14 \$\$ Hept-2-ene	9527	000592-77-8	25
			\$\$ Heptene-2			
9	9.579	2.64	C:\Database\W9N11.L 1,3-Dimethyl-3-n-butylidiaziridine	34073	998034-07-3	35
			\$\$ 3-Butyl-1,3-dimethyldiaziridine			
			#			
			1,3-Dimethyl-3-n-butylidiaziridine	34074	998034-07-4	35
			\$\$ 3-Butyl-1,3-dimethyldiaziridine			
			3-Heptene, (E)- \$\$ (E)-3-Heptene \$	9532	014686-14-7	30
			\$ trans-3-Heptene \$\$ 3-C7H14			
10	9.756	6.16	C:\Database\W9N11.L N-ETHYL-N-METHYL-2-PROPENYLAMINE	10003	998010-00-3	46
			2-Propen-1-amine, N-ethyl-N-methyl	10076	107995-54-0	46
			- \$\$ N-Ethyl-N-methyl-2-propen-1-a			
			mine #			
			N-Methyl-3-piperidinecarboxamide \$	53388	002115-98-0	37
			\$ 1-Methyl-3-piperidinecarboxamide			
			#			
11	11.121	4.37	C:\Database\W9N11.L (1R-(1Alpha,3beta,4beta))-1-isopro	215176	057211-60-6	47
			penyl-4-methyl-1,3-cyclohexanediol			
			3-acetate			
			2-Methylene-1-(4-pentenyl)pyrrolid	68959	998068-95-9	38
			ine			
			4(3H)-Pyrimidinone, 3-ethyl-2,6-di	70055	032363-52-3	35
			methyl-			
12	15.495	2.92	C:\Database\W9N11.L Carbonic acid, dodecyl 2,2,2-trich	606637	998606-63-7	62
			loroethyl ester			
			Carbonic acid, tridecyl 2,2,2-tric	633511	998633-51-1	62
			chloroethyl ester			
			Chloroacetic acid, tridecyl ester	398314	018277-85-5	58
			\$\$ Tridecyl chloroacetate #			
13	15.901	5.40	C:\Database\W9N11.L Hexadecanoic acid, methyl ester (C	382604	000112-39-0	97
			AS) \$\$ Methyl palmitate			
			Hexadecanoic acid, methyl ester \$\$	382582	000112-39-0	97
			Palmitic acid, methyl ester			
			Hexadecanoic acid, methyl ester \$\$	382580	000112-39-0	97
			Palmitic acid, methyl ester			
14	17.664	1.39	C:\Database\W9N11.L cis-Vaccenic acid \$\$ 11-Octadeceno	416530	000506-17-2	64
			ic acid, (Z)- \$\$ (Z)-11-Octadeceno			
			ic acid			
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e	455234	000112-62-9	62
			ster (CAS) \$\$ Methyl oleate			
			Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- \$\$	296401	004727-18-8	58
			2-Hydroxycyclopentadecanone #			

Lampiran 5. Lanjutan



```

Library Search Report
Data Path : D:\Data\2014\
Data File : 04071.D
Acq On : 19 Nov 2014 11:36
Operator : che2
Sample : ekstr tinta (metanol)
Misc : Unbrow
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0
Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator autoint1.e

PK# RT Area% Library/ID Ref# CAS# Qual
15 17.715 1.53 C:\Database\W9N11.L
cis-9-Hexadecenoic acid 336402 998336-40-2 50
methyl dihydromalvalate 455332 998455-33-2 49
cis-13-Octadecenoic acid 416531 013126-39-1 43
16 17.812 2.13 C:\Database\W9N11.L
Oleyl alcohol, trifluoroacetate 615467 998615-46-7 41
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) $ 416365 000112-90-1 38
Oleic acid $ Red oil $ Celsaure
2-Octadecenal (spectrum disagrees) 371329 056554-96-2 38
(CAS) $ 2-Octadecenal
17 17.897 2.54 C:\Database\W9N11.L
Heptadecanoic acid, 14-methyl-, me 460913 002490-23-5 98
thyl ester $ Methyl 14-methylhept
adecanoate
Heptadecanoic acid, 16-methyl-, me 460910 002490-25-7 95
thyl ester $ Methyl 16-methylhept
adecanoate #
Octadecanoic acid, methyl ester (C 460881 000112-61-6 81
AS) $ Methyl stearate $ Methyl o
ctadecanoate
18 20.078 1.63 C:\Database\W9N11.L
Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, met 503260 002420-36-2 38
hyl ester $ Methyl 3-hydroxyoctad
ecanoate
2,2-Dimethylpropanoic acid, heptad 566353 998566-35-3 35
ecyl ester $ Heptadecyl pivalate
Undecyl 2-methylbutanoate 342442 998342-44-2 35
19 20.450 7.44 C:\Database\W9N11.L
Trimethyl-[2-[2-[2-[2-[2-(2-tri 750274 998750-27-4 53
methylsilyloxyethoxy)ethoxy]ethoxy
]ethoxy]etho
Uridine, 2'-deoxy- $ Uracil deoxy 259452 000951-78-0 50
riboside $ Deoxyribose uracil
Methyl 2,2-dimethyl-3,6,9-trioxa-2 322068 998322-06-8 50
-silaundecan-11-oate
20 20.822 2.23 C:\Database\W9N11.L
Butyl 4,7,10,13,16,19-docosaheptaen 651979 998651-97-9 38
oate
Butyl 4,7,10,13,16,19-docosaheptaen 651980 998651-98-0 38
oate
Methyl 4,7,10,13,16,19-docosaheptae 571066 998571-06-6 25
noate
21 21.572 2.42 C:\Database\W9N11.L
Silane, dimethyl[(methylsilyl)meth 23756 018148-13-5 22
yl]- $ 2,4-Disilapentane, 2-methy
l-
Butanoic acid, 3-methyl-, hexadecyl 533564 055334-36-6 18
l ester $ Hexadecyl 3-methylbutan
oate #
Valeric acid, octadecyl ester $ O 596585 998596-58-5 14
ctadecyl pentanoate #
Farm.M Wed Nov 19 12:29:03 2014
Page:

```

Lampiran 5. Lanjutan

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\
 Data File : 04073.D
 Acq On : 19 Nov 2014 11:36
 Operator : che2
 Sample : ekst tinta (metanol)
 Misc : Unbrow
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

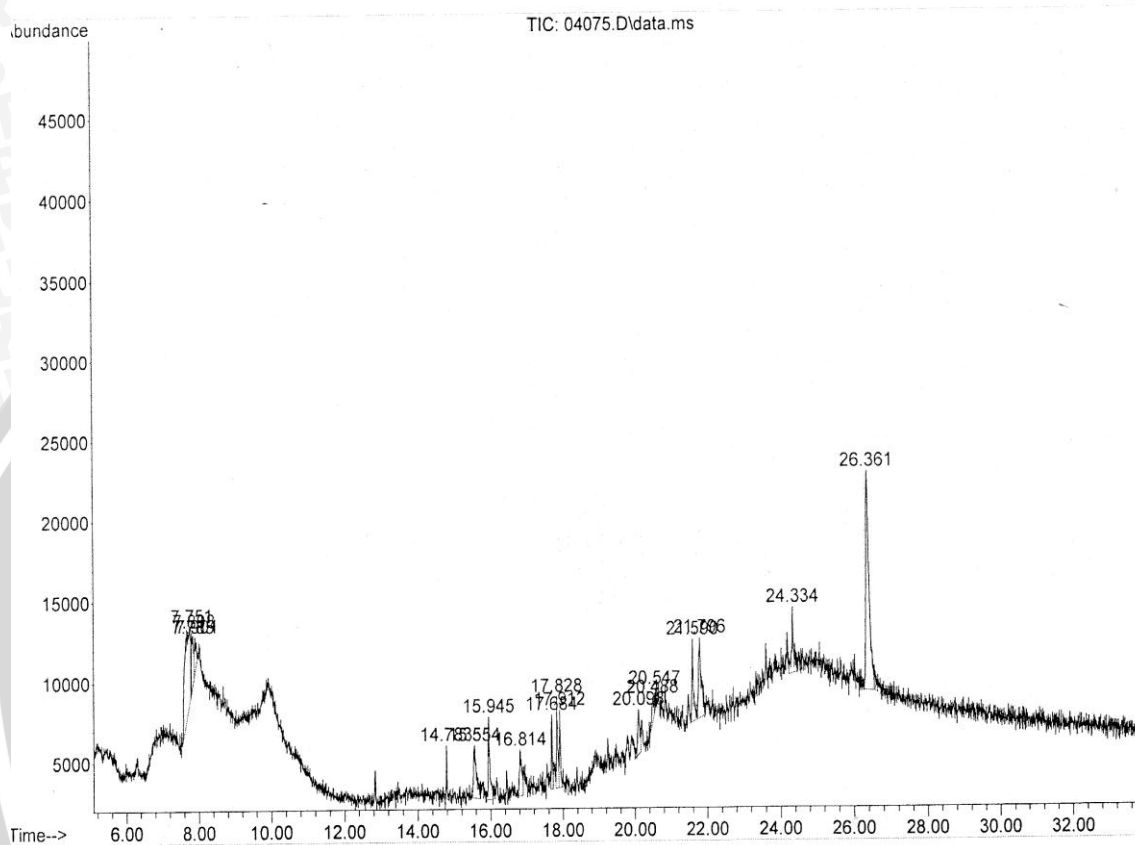
Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
22	21.755	3.74	C:\Database\W9N11.L			
			Methyl 3-hydroxytetradecanoate	347402	055682-83-2	38
			Tetradecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester			
			10-Chlorodecyl 2-methylbutanoate	398315	998398-31-5	38
			METHYL 3-HYDROXYDODECANOATE	266591	072864-23-4	38
			ECANOIC ACID, 3-HYDROXY, METHYL ESTER			
23	23.506	0.87	C:\Database\W9N11.L			
			3,5-Dimethylbenzaldehyde thiocarba	200500	998200-50-0	38
			moylhydrazone			
			Cheilanth-13(14)-enic Methyl Ester	655372	998655-37-2	38
			1H-Indole-2-carboxylic acid, 6-(4-ethoxyphenyl)-3-methyl-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydr	597845	998597-84-5	35
24	26.338	11.99	C:\Database\W9N11.L			
			Cholesterol	655439	000057-88-5	93
			3.beta.)- (-)-Cholesterol			
			26-Nor-5-cholesten-3.beta.-ol-25-o	655357	007494-34-0	84
			ne			
			26-Nor-5-cholesten-3.beta.-ol-25-o	655355	007494-34-0	45
			ne			
			26-Nor-5-cholesten-3.beta.-ol-25-o			
			ne			

Lampiran 6. Puncak Kromatogram 3OC8HSL Sintetis yang ditambahkan Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.)

No. Puncak	Nama Senyawa	Waktu Retensi	% Area
1	2-piperidinon-2 piperidon-alfa-piperidon delta - valerolactam	7,679	10,22
2	2-piperidinone 2-piperidone.alfa-piperidone delta - valerolactam	7,696	3,01
3	Asam hexanoik, 2 tetradecil ester 1-metiltridesil hexanoat	7,748	4,73
4	Piperidinone (CAS) piperidone piperdinone	7,788	1,11
5	2-piperidinon-2 piperidon-alfa-piperidon delta - valerolactam	7,805	2,61
6	Oktadekametilsiklononasiloxan siklononasiloxane, oktadekametil (CAS)	14,786	2,39
7	2-asam butanadioik monododesil ester	15,558	1,82
8	Asam heksadekanoik, metil ester metil palmitat	15,947	5,45
9	Oktil 3, 3-dikloroasrilat	16,811	4,91
10	9 asam oktadekenoik (Z)-, metil ester (CAS) metil oleat	17,687	3,25
11	2-heksadeken-1-ol,3,7,11,15-tetrametil-[R-[R*,R*-(E)]] (CAS) pitol (CAS)	17,830	4,87
12	Asam triacontanoik, metil ester, metil melissate, metil melisisat	17,910	3,67
13	Desil 2-metilbutanoat	20,096	2,82
14	Trimetil-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-trimetilsililosietoksi) etoksi] etoksi] et	20,490	2,05
15	Metil 2,2-dimetil-3,6,9,12,15, 18,21-heptaoksa-2-silatricosan-23-oat	20,548	1,33
16	Metil 2,2-dimetil-3,6,9,12,15, 18,21-heptaoksa-2-silatricosan-26-oat	20,588	0,39
17	Benzene, 1-isotiosianato-2-metil Asam isotianik, o-tolil ester	21,589	5,92
18	Metil 3-hidroksitetradekanoat Asam tetradekanoik, 3-hidroksi, metil ester	21,795	6,77
19	Cis-3, 3a,4,5,6,7-heksahidro-7-(-2-tienilsikloheksa [c] isoxazole	23,603	1,36
20	Fenol, 2, 2'-[(1-metil-1, 2-etanedil) bis (nitrilometilidin)] bis-	24,187	1,86
21	Fenol, 2, 2'-[(1-metil-1, 2-etanedil) bis (nitrilometilidin)] bis-	24,336	3,12
22	Kolesterol kolest-5-en-3-ol 3 beta)	26,361	26,35

Lampiran 7. Lanjutan

File Name: Ekstrak Tinta (Metanol+AHL)
 Info : Unbraw.
 Number: 1



Lampiran 8. Lanjutan

```

Data Path : D:\Data\2014\
Data File : 04075.D
Acq On : 19 Nov 2014 13:09
Operator : che2
Sample : Ekstrak Tinta (Metanol+AHU)
Misc : Unbrow.
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk# RT Area# Library/ID Ref# CAS# Qual
1 7.753 16.54 C:\Database\W9N11.L
Octadecane, 1-isocyanato- $$ Isocy 452043 000112-96-9 59
anic acid, octadecyl ester
2-Piperidinone $$ 2-Piperidone $$ 9934 000675-20-7 58
.alpha.-Piperidone $$ .delta.-Vale
rolactam
1,2-Dimethylhexahydropyrimidine 20258 998020-25-8 53
2 7.788 1.17 C:\Database\W9N11.L
Piperidinone (CAS) $$ Piperidone $ 9941 027154-43-4 53
$ PIPERIDINONE
Piperidinone (CAS) $$ Piperidone $ 9940 027154-43-4 53
$ PIPERIDINONE
1-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethyl)pipera 116968 013349-82-1 53
zine $$ 2-[2-(1-Piperazinyl)ethoxy
]ethanol
3 7.810 3.92 C:\Database\W9N11.L
2-Piperidinone $$ 2-Piperidone $$ 9934 000675-20-7 64
.alpha.-Piperidone $$ .delta.-Vale
rolactam
2-Piperidinone $$ 2-Piperidone $$ 9933 000675-20-7 58
.alpha.-Piperidone $$ .delta.-Vale
rolactam
2-Piperidinone (CAS) $$ 2-Piperido 9938 000675-20-7 58
ne $$ VALEROLACTAM $$ Valerolactim
4 7.902 2.12 C:\Database\W9N11.L
2-Piperidinone $$ 2-Piperidone $$ 9934 000675-20-7 52
.alpha.-Piperidone $$ .delta.-Vale
rolactam
1-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethyl)pipera 116968 013349-82-1 50
zine $$ 2-[2-(1-Piperazinyl)ethoxy
]ethanol
2-Ethyl-1-methylhexahydropyrimidin 34071 998034-07-1 50
5 14.786 1.44 C:\Database\W9N11.L
OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE $$ 808247 000556-71-8 64
Cyclononasiloxane, octadecamethyl
- (CAS)
Cyclononasiloxane, octadecamethyl- 808240 000556-71-8 58
$$ Octadecamethyl-cyclononasiloxan
OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE $$ 808241 000556-71-8 58
Cyclononasiloxane, octadecamethyl
- (CAS)
6 15.552 5.56 C:\Database\W9N11.L
TETRADECANOL-O18 221747 056712-06-2 64
1-Tetradecanol $$ n-Tetradecan-1-o 221689 000112-72-1 64
1 $$ n-Tetradecanol $$ n-Tetradecy
1 alcohol
1-Dodecanol (CAS) $$ n-Dodecanol $ 147009 000112-53-8 64
$ CO 12 $$ S 1298 $$ Dodecanol $$
Pisol
7 15.947 5.23 C:\Database\W9N11.L
Hexadecanoic acid, methyl ester (C 382586 000112-39-0 72
AS) $$ Methyl palmitate

```

warm.M Wed Nov 19 14:14:20 2014

Page: 1

Lampiran 9. Lanjutan

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\
Data File : 04075.D
Acq On : 19 Nov 2014 13:09
Operator : che2
Sample : Ekstrak Tinta (Metanol+AHL)
Misc : Unbrow
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			Octadecanoic acid, methyl ester (C 460876 000112-61-8 64			
			AS) \$\$ Methyl stearate \$\$ Methyl o			
			ctadecanoate			
			Methyl stearate \$\$ Octadecanoic ac 460852 000112-61-8 64			
			id. methyl ester, \$\$ Stearic acid,			
			methyl ester			
8	16.817	4.03	C:\Database\W9N11.L			
			E,E-2,4-decadienol	76381	998076-38-3 25	
			2,4-Decadien-1-ol, (E,E)- \$\$ (E,E)	75688	018409-21-7 25	
			-2,4-Decadien-1-ol \$\$ trans-2,4-De			
			cadienol			
			(2E)-3-hydroxymethyl-7-methyl-6,7-	145732	100582-46-5 22	
			epoxyoct-2-en-1-ol			
9	17.687	2.86	C:\Database\W9N11.L			
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e	455234	000112-62-9 68	
			ster (CAS) \$\$ Methyl oleate			
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e	455237	000112-62-9 68	
			ster \$\$ Oleic acid, methyl ester			
			cis-10-Heptadecenoic acid, methyl	416532	998416-53-2 68	
			ester			
10	17.830	4.35	C:\Database\W9N11.L			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetram	455619	000150-86-7 43	
			ethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS) \$\$			
			Phytol (CAS)			
			(cis)-2-nonadecene \$\$ cis - 2 - no	371498	998371-49-8 25	
			nadecene			
			(cis)-2-nonadecene \$\$ cis - 2 - no	371499	998371-49-9 25	
			nadecene			
11	17.910	3.38	C:\Database\W9N11.L			
			Triacontanoic acid, methyl ester \$	747947	000629-83-4 38	
			\$ Methyl melissate \$\$ Methyl melis			
			sicate			
			Tetradecanoic acid, 5,9,13-trimeth	422333	056196-55-5 38	
			yl-, methyl ester			
			Heptadecanoic acid, 16-methyl-, me	460921	005129-61-3 35	
			thyl ester \$\$ Methyl isostearate			
12	20.096	3.54	C:\Database\W9N11.L			
			Decyl 2-methylbutanoate	302238	998302-23-8 43	
			Tetradecyl 2-methylbutanoate	461014	998461-01-4 43	
			Thymidine, bis(trimethylsilyl) der	653661	998653-66-1 37	
			iv,			
13	20.490	1.83	C:\Database\W9N11.L			
			Trimethyl-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-	799962	998799-96-2 47	
			[2-(2-trimethylsilyloxyethoxy)etho			
			xy]ethoxy]et			
			Methyl 2,2-dimethyl-3,6,9,12,15,18	646684	998646-68-4 43	
			-hexaoxa-2-silaicosan-20-oate			
			Methyl 2,2-dimethyl-3,6,9,12,15,18	750272	998750-27-2 43	
			,21,24-octaoxa-2-silahexacosan-26-			
			oate			
14	20.548	0.50	C:\Database\W9N11.L			

Warm.M Wed Nov 19 14:14:20 2014

warm.M Wed Nov 19 14:14:20 2014

P.

Lampiran 10. Lanjutan

```

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\
Data File : 04075.D
Acq On : 19 Nov 2014 13:09
Operator : che2
Sample : Ekstrak Tinta (Metanol+AHU)
Misc : Unbrow.
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk# RT Area% Library/ID Ref# CAS# Qual
-----
Methyl 2,2-dimethyl-3,6,9,12,15,18,21-hepta-2-silatricosan-23-oate 709558 998709-55-8 47
Methyl 2,2-dimethyl-3,6,9,12,15-penta-2-silaheptadecan-17-oate 559554 998559-55-4 38
Methyl 2,2-dimethyl-3,6,9,12,15,18,21,24-octa-2-silaheptacosan-26-oate 750272 998750-27-2 38

15 21.589 4.84 C:\Database\W9N11.L
Benzene, 1-isothiocyanato-2-methyl-2-ethylhexyl ester 64405 000614-69-7 25
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) 661653 000117-81-7 14
Decyl 2-methylbutanoate 302238 998302-23-8 14

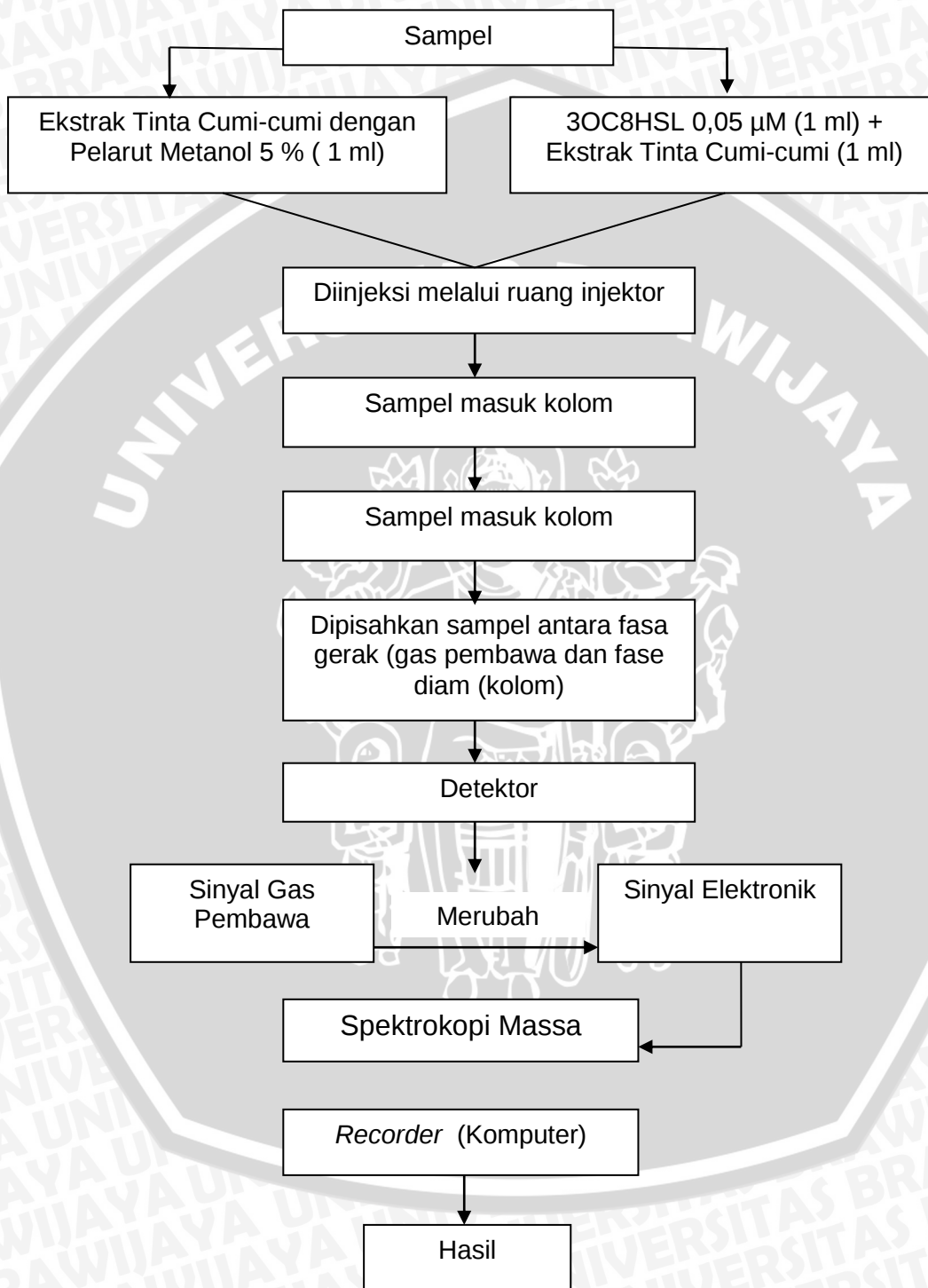
16 21.795 7.94 C:\Database\W9N11.L
Methyl 3-hydroxytetradecanoate 347402 055682-83-2 43
Tetradecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester 503260 002420-36-2 38
Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester 397889 056667-13-1 38
3-Hexanone, 1,5,6,6-tetraethoxy-, CAS) 6,6,5,1-TETRAETHOXYHEXAN-3-ONE

17 24.336 4.84 C:\Database\W9N11.L
Phenol, 2,2'-[(1-methyl-1,2-ethanediyl)bis(nitrilomethylidyne)]bis-3,3-diethoxy-1,1,1,5,5,5-hexamethyltrisiloxane 415773 000094-91-7 47
1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-tetradecamethylheptasiloxane 452454 003555-45-1 47
771071 019095-23-9 42

18 26.361 25.91 C:\Database\W9N11.L
Cholesterol 3-beta.)- 25-Norcholesterol, 25-oxo- 655456 000057-88-5 93
Cholesterol 3-beta.)- 25-Norcholesterol, 25-oxo- 655439 000057-88-5 56
Cholesterol 3-beta.)- 25-Norcholesterol, 25-oxo- 655355 007494-34-0 56

```

Lampiran 11. Skema Uji GC-MS (Gass Chromatography-Mass Spectrometry)



Lampiran 12. Alat Penelitian



Mikropipet



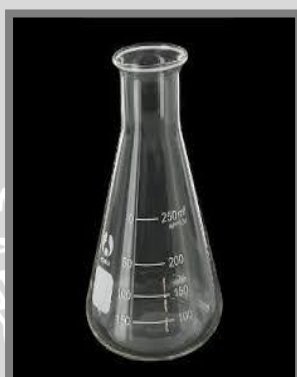
Botol sampel



Corong



Coolbox



Beaker Glass



Washing Bottle



Waterbath



Pisau



Gelas Ukur



Rotary Evapometer



Pompa Vacuum

Lampiran 13. Lanjutan



Alat GC-MS



Freezer



Shaker



Falcon



Timbangan Digital