

**UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT FRAKSINAT ETIL ASETAT TINTA
CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) DAN SOTONG (*Sepia* sp.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh:

**SHONIA NUR AISYAH
NIM: H71217041**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2021**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Shonia Nur Aisyah

NIM : H71217041

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2017

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: **“UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT FRAKSINAT ETIL ASETAT TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) DAN SOTONG (*Sepia* sp.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*”**, Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 18 November 2021

Yang menyatakan,



Shonia Nur Aisyah

NIM. H71217041

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Uji Efektivitas Daya Hambat Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan Sotong (*Sepia* sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Diajukan oleh:
Shonia Nur Aisyah
NIM: H71217041

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 29 Oktober 2021

Dosen Pembimbing Utama



Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes
NIP. 198107252014031002

Dosen Pembimbing Pendamping




Hanik Faizah, S.Si., M.Si
NUP. 201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI


Skripsi Ifanadiya ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
Surabaya, 31 Desember 2021

Mengesahkan,
Dewan Penguji


Penguji I


Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes
NIP. 198107252014031002


Penguji II


Wiga Alif Violando, M.P
NIP. 199203292019031012

Penguji III


Asri Sawiji, M.T
NIP. 198706262014032003

Penguji IV


Fajar Setiawan, M.T
NIP. 198405062014031001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya




Prof. Dr. Hi. Evi Fatmatur Rusydiyah, M.Ag
NIP. 197312272005012003



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Shonia Nur Aisyah
NIM : H71217041
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/BIOLOGI
E-mail address : shoniana97@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT FRAKSINAT ETIL ASETAT TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) DAN SOTONG (*Sepia* sp.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 19 November 2021

Penulis

(Shonia Nur Aisyah)

ABSTRAK

UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT FRAKSINAT ETIL ASETAT TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) DAN SOTONG (*Sepia sp.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE KIRBY BAUER

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* merupakan bagian dari bakteri flora normal yang sering mengakibatkan infeksi pada manusia dengan memicu terjadinya diare, folikulitis, hingga pneumonia. Penggunaan antibiotik untuk mengobati infeksi dapat mengakibatkan timbulnya resistensi terhadap bakteri tersebut sehingga diperlukan antibakteri alternatif untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas daya hambat menggunakan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) serta fraksinat etil asetat tinta sotong (*Sepia sp.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan untuk melihat efektivitas zona hambat adalah Kirby Bauer. Metode Kirby Bauer dilakukan dengan menghitung rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling *paperdisk* dengan fraksinat etil asetat tinta sotong dan cumi-cumi konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Data nilai diameter zona hambat diuji dengan menggunakan Uji *Kruskal Wallis* pada SPSS 20.0. Hasil nilai signifikansi Uji *Kruskal Wallis* adalah 0.001 menunjukkan jika variasi konsentrasi fraksinat tinta memiliki pengaruh terhadap besarnya diameter zona hambat bakteri *S. aureus* dan *E.coli*. Fraksinat tinta sotong memiliki nilai rata-rata diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi. Nilai rata-rata terbaik adalah hasil fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40% terhadap bakteri *S.aureus* dengan nilai 11.8 mm. Nilai rata-rata terendah adalah hasil fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20% terhadap bakteri *E.coli* dengan nilai 2.3 mm.

Kata kunci: Antibakteri, Tinta, Cumi-cumi, Sotong, Fraksi, Etil asetat

ABSTRACT

EFFECTIVENESS TEST OF THE INHIBITION OF SOLUBLE FRACTION OF ETHYL ACETATE OF SQUID (*Loligo sp.*) AND CUTTLEFISH (*Sepia sp.*) INK ON THE GROWTH OF *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus* BACTERIA USING KIRBY BAUER METHOD

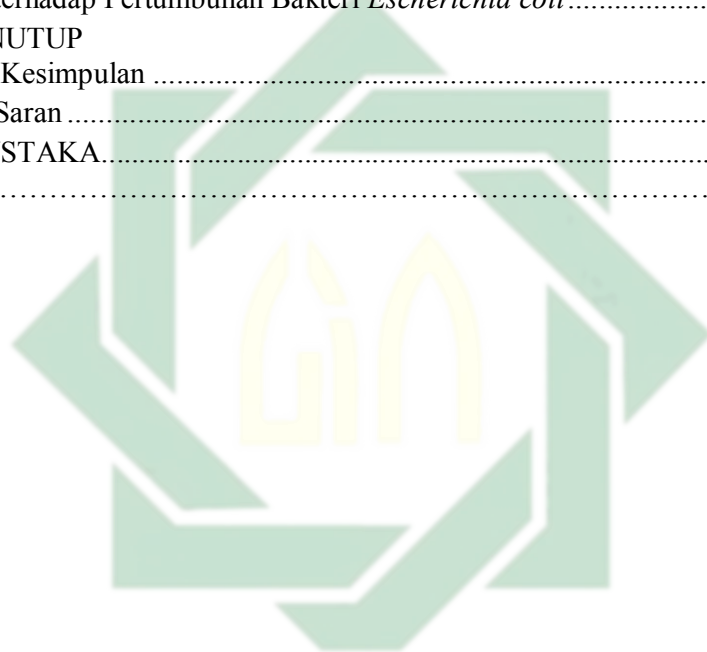
Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* are a part of normal floral bacteria that often cause infection in humans by triggering diarrhea, folliculitis, and pneumonia. The use of antibiotics to treat infections can lead to emergence of resistance to these bacteria so it is necessary to look for alternative antibacterial agents to inhibit the growth of these bacteria. This study was conducted to determine the effectiveness of the inhibition using the ethyl acetate fraction of cuttlefish (*Sepia sp.*) ink and ethyl acetate fraction of squid (*Loligo sp.*) ink against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The method used to see the effectiveness of the inhibition zone is Kirby Bauer. The Kirby Bauer method used was carried out by calculating the average diameter of the inhibition zone formed around the paperdisk by ethyl acetate fraction of cuttlefish ink and squid ink at a concentration 20%, 30%, 40%, and 50% against *S.aureus* and *E.coli*. The data of diameter inhibition zone was tested using the Kruskal Wallis on SPSS 20.0. The test results show that the variation of the fractional concentration has an effect on the diameter of inhibition zone at *S.aureus* and *E.coli*. Cuttlefish ink fractionate had a larger average inhibition zone diameter than squid ink fractionate. The best average value was from fractionate ethyl acetate of cuttlefish (*Sepia sp.*) ink with concentration 40% against *S.aureus* bacteria with value 11.8 mm. The lower average value was from fractionate ethyl acetate of squid (*Loligo sp.*) ink with concentration 20% against *E.coli* bacteria with value 2.3 mm.

Keywords : Antibacteria, Ink, *Loligo sp.*, *Sepia sp.*, Fraction, Ethyl acetate

DAFTAR ISI

Halaman Judul	ii
Halaman Pernyataan Keaslian	iii
Halaman Persetujuan	iv
Lembar Pernyataan Persetujuan Publikasi	vi
Halaman Motto	vii
Halaman Persembahan	viii
Abstrak	ix
Kata Pengantar	xi
Daftar Isi	xii
Daftar Tabel	xiv
Daftar Gambar	xv
Daftar Lampiran	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	17
1.2 Rumusan Masalah	22
1.3 Tujuan Penelitian	23
1.4 Manfaat Penelitian	23
1.5 Batasan Penelitian	23
1.6 Hipotesis Penelitian	24
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kelas Cephalopoda	25
2.2 Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	26
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	26
2.3 Sotong (<i>Sepia</i> sp.)	27
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Sotong (<i>Sepia</i> sp.)	27
2.4 Tinta dari Hewan Kelas Cephalopoda	29
2.5 Fraksinasi	30
2.6 Antimikroba	31
2.6.1 Mekanisme Kerja Antibakteri	33
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri	34
2.7.1 Metode Difusi	34
2.7.2 Metode Dilusi	36
2.8 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	37
2.8.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Escherichia coli</i>	37
2.8.2 Patogenesis <i>Escherichia coli</i>	39
2.9 Bakteri <i>Staphyococcus aureus</i>	39
2.9.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Staphyococcus aureus</i>	39
2.9.2 Patogenesis <i>Staphyococcus aureus</i>	40
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	42
3.2 Bahan dan Alat	43

3.2.1 Alat.....	43
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	43
3.4 Variabel Penelitian	44
3.5 Prosedur Penelitian	44
3.6 Analisis Data	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Fraksinat Tinta Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.) dan Sotong (<i>Sepia</i> sp.)	52
4.2 Uji Daya Hambat Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi dan Sotong terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	57
4.3 Uji Daya Hambat Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi dan Sotong terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	66
BAB V PENUTUP	
5.1. Kesimpulan	75
5.2 Saran	75
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	74



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Rancangan penelitian	41
Tabel 3. 2 Waktu pelaksanaan penelitian	43
Tabel 4. 1 Nilai rendemen fraksinat	55
Tabel 4. 2 Nilai rata-rata diameter zona hambat bakteri <i>S. aureus</i>	57
Tabel 4. 3 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> diameter zona hambat <i>S.aureus</i>	61
Tabel 4. 4 Nilai rata-rata diameter zona hambat bakteri E.coli	67
Tabel 4. 5 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> diameter zona hambat E.coli	71



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Cumi-Cumi (<i>Loligo sp.</i>)	26
Gambar 2.2 Morfologi Sotong (<i>Sepia sp.</i>)	27
Gambar 2.3 Fraksinasi dengan corong pemisah	30
Gambar 2.4 Mekanisme kerja antibakteri	32
Gambar 2.5 Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	38
Gambar 2.6 Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Gambar 3.1 Diagram alir	49
Gambar 4.1 Morfologi (a-c) sotong (b-d) cumi-cumi	51
Gambar 4.2 Perbedaan karakteristik tinta sotong dan cumi-cumi	52
Gambar 4.3 Tekstur tinta sebelum-sesudah dievaporasi	53
Gambar 4.4 Hasil Penelitian fraksinat etil asetat tinta (<i>S.aureus</i>)	56
Gambar 4.5 Rata-Rata diameter zona hambat <i>S. aureus</i>	63
Gambar 4.6 Hasil Penelitian fraksinat etil asetat (<i>E. coli</i>)	65
Gambar 4.7 Rata-rata diameter zona hambat <i>E.coli</i>	69



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian	83
Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi	84
Lampiran 3. Analisis Data	85



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroorganisme adalah organisme hidup yang memiliki ukuran sangat kecil sehingga tak kasat mata dan hanya dapat diamati dengan menggunakan alat bantu berupa mikroskop. Mikroorganisme terdiri dari berbagai jenis yaitu virus, protozoa, jamur tingkat rendah seperti ragi, serta bakteri. Mikroorganisme yang memiliki sifat kosmopolitan atau paling banyak jumlah dan persebarannya luas hingga di tempat bersuhu ekstrim adalah bakteri (Anggraeni, 2017; Win *et al.*, 2014). Bakteri dapat berkembang biak dan memperbanyak diri, kemudian menjangkit dan menempati lingkungan baru yang cocok untuk ditinggali. Manusia adalah salah satu ‘lingkungan’ yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri untuk ditinggali. Keberadaan bakteri pada tubuh manusia akan memberikan dampak, baik positif maupun negatif. Bakteri yang berdampak positif seperti flora normal yang hidup dalam usus manusia membantu proses pencernaan manusia, namun ada beberapa bakteri bersifat patogen yang berdampak negatif dan dapat menimbulkan penyakit (Agustiyanti *et al.*, 2018).

Flora normal merupakan berbagai macam mikroorganisme seperti bakteri dan jamur yang berada di organ-organ tertentu tubuh. Contoh dari flora normal adalah bakteri *Escherichia coli* yang berada di usus manusia serta *Staphylococcus aureus* yang berada di kulit. Meskipun flora normal merupakan mikroorganisme alami yang umumnya terdapat pada tubuh

manusia, beberapa flora normal dapat bersifat patogen apabila menginfeksi saat imunitas inangnya menurun. Bakteri *E. coli* dapat mengakibatkan beberapa penyakit seperti infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis, dan umumnya diare (Ihsanuddin *et al.*, 2016). Menurut data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2018), pada tahun 2017 kurang lebih sebanyak 4.274.790 kasus diare telah terjadi di 34 provinsi, sedangkan untuk Provinsi Jawa Timur sendiri telah mencapai angka 604.779 atau sekitar 12,8% dari total kasus. Bakteri *S. aureus* dapat mengakibatkan gangguan kronis pada kulit yang mengalami luka, folikulitis, pneumonia, dan gangguan lainnya (Ihsanuddin *et al.*, 2016). Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2018) kasus pneumonia pada balita tahun 2017 mencapai 447.431 kasus telah terjadi di 34 provinsi, dan untuk provinsi Jawa Timur mencapai 65.139 atau sekitar 14,5% dari total kasus.

Penyakit yang ditimpakan kepada manusia adalah salah satu ciptaan Allah yang berguna bagi manusia untuk lebih mempelajari kekuasaan dan keagungan-Nya. Allah telah menciptakan alam semesta beserta makhluk-makhluk-Nya untuk dapat memenuhi urusan manusia seperti yang tersirat dalam QS. Al-Baqarah (164) yang berbunyi :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيَّاحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya :

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi

itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan (QS. Al-Baqarah: 164).”

Menurut tafsir Al Azhar oleh Prof. Dr. Hamka (2015), semesta terdiri dari tanda-tanda kebesaran Allah SWT yang ada untuk dipelajari lebih dalam oleh manusia dan dicari hikmahnya bagi kehidupan. Kebesaran-kebesaran tersebut ada agar mendorong manusia berpikir dan merenungkan kekuasaan-Nya dalam menjaga keteraturan alam semesta beserta penghuninya, begitu juga dengan penyakit yang ditimpakan Allah SWT kepada hamba-hambanya.

Infeksi oleh bakteri dapat diobati dengan penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik sering dipersalahgunakan oleh masyarakat sebab antibiotik beredar bebas di pasar. Seiring dengan penggunaan antibiotik yang semakin pesat dan kurangnya edukasi, resistensi bakteri terhadap antibiotik yang digunakan semakin meningkat. Bakteri yang diinduksi dengan senyawa antibiotik secara berlebihan dan jangka panjang dapat menginaktivasi antibiotik, mencegah masuknya obat dengan mengubah permeabilitas membran, atau melakukan *efflux* untuk memompa obat keluar dari dalam sel (Ugboko & De, 2014). Hal ini memicu bakteri menjadi lebih mampu beradaptasi dengan antibiotik dan menjadi kebal, oleh karena itu, dibutuhkan obat alternatif untuk menangani infeksi bakteri (Rahayu, 2012).

Manusia berhak untuk mengupayakan atau mencari solusi dari penyakit yang dideritanya. Rasulullah SAW telah bersabda dari Abu Darda’:

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالِدَوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَدَاوَوْا بِحَرَامٍ

Artinya:

“Allah telah menurunkan penyakit dan juga obatnya. Allah menjadikan setiap penyakit ada obatnya. Maka berobatlah, namun jangan berobat dengan yang haram.” (HR. Abu Daud no. 3874)

Berdasarkan ayat tersebut jelaslah bahwa manusia harus mengupayakan sembuh dari penyakitnya dan mencari obat bagi suatu penyakit, selama obat tersebut halal maka Allah mengizinkannya (Al-Jauziyah, 2018).

Obat-obatan alternatif yang berasal dari alam yang bermanfaat untuk mengatasi infeksi dari bakteri semakin banyak dicari demi meningkatkan efektivitas pengobatan infeksi dan memenuhi kebutuhan manusia. Obat-obatan alami atau alternatif dinilai masyarakat lebih alami karena minimnya penggunaan bahan kimia sehingga lebih aman untuk konsumsi jangka panjang (Rahayu, 2012)

Alam menyediakan banyak sekali hal yang dapat dimanfaatkan demi kesehatan dan kebutuhan obat-obatan manusia, akan tetapi penggunaannya masih terbatas. Salah satu hasil alam yang masih jarang dimanfaatkan untuk kebutuhan obat-obatan ialah hasil perairan. Selama ini hasil perairan yang dinilai memiliki kandungan protein tinggi sering diabaikan potensinya untuk dimanfaatkan sebagai obat alternatif. Kandungan protein yang tinggi pada hasil perairan seperti komoditas perikanan atau rumput laut lebih banyak digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi pangan (Rahayu, 2012). Salah satu hasil perikanan yang banyak diminati oleh masyarakat berasal dari Kelas Cephalopoda, Ordo Teuthoidea, seperti cumi-cumi, sotong, dan gurita. Kekhasan dari hewan Kelas Cephalopoda adalah menghasilkan tinta sebagai bentuk perlindungan diri terhadap predator (Vairappan, 2003).

Berbeda dengan gurita yang mengkombinasikan tinta dan menyuntikkan racun, cumi-cumi dan sotong hanya menggunakan tinta untuk mengelabui predator (Hanlon & Messenger, 1996). Tinta dari cumi-cumi dan sotong memiliki kandungan seperti melanin, taniin, protein, alkaloid, juga senyawa asam karboksilat (Glass *et al.*, 2012). Tinta sotong memiliki warna hitam yang lebih pekat apabila dibandingkan dengan tinta cumi-cumi, hal ini karena kandungan melanin pada tinta sotong lebih tinggi dibandingkan dengan tinta cumi-cumi yang mencapai $\pm 15\%$ dari berat tinta (Derby, 2014; Palumbo, 2003). Selain lebih pekat, tinta sotong juga memiliki tingkat viskositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tinta cumi-cumi. Tinta cumi-cumi memiliki kemampuan absorpsi minyak yang lebih baik dengan pH $6.45 \pm 0,01\%$ dan cenderung asam karena lebih tingginya kandungan senyawa asam karboksilat seperti *oleic acid* dan *cinnamic acid* (Affandi *et al.*, 2019), sedangkan tinta sotong memiliki kemampuan absorpsi air yang lebih baik dengan pH $7.26 \pm 0,02\%$ karena lebih tingginya kandungan alkaloid (Ahamed *et al.*, 2018).

Penelitian menunjukkan bahwa tinta cumi dan sotong memiliki aktivitas antibakteri. Menurut penelitian dari Wulandari (2016), kandungan melanin tinta cumi-cumi dapat membantu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio harveyi*. Vasantharaja *et al.* (2014) melaporkan jika ekstrak metanol tinta sotong menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Proteus vulgaris*. Ekstrak metanol dari tinta sotong juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* (Islamy, 2019). Menurut penelitian Fitriani dan Khotimah (2017), ekstrak HCl 0,5 M tinta sotong dan cumi-cumi memiliki kemampuan daya hambat yang

lebih baik dibandingkan tinta cumi-cumi terhadap bakteri gram negative *Escherichia coli*. Tairas *et al.* (2013) telah menggunakan metode fraksinasi larut etil asetat tinta cumi-cumi terhadap bakteri gram positif *Streptococcus pyogenes*, akan tetapi hasilnya dinilai belum maksimal, sedangkan penggunaan metode fraksinasi larut etil asetat belum dilakukan terhadap tinta sotong dan bakteri lain sehingga perlu diteliti untuk mengetahui apakah memiliki hasil yang sama atau berbeda.

Adanya perbedaan secara fisik dan kimiawi dari tinta cumi-cumi dan sotong, menunjukkan hasil aktivitas antibakteri yang berbeda. Penelitian fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong belum dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian efektivitas daya hambat dari fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan tinta sotong, pengujian juga dalam berbagai tingkat konsentrasi untuk melihat potensinya sebagai antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan sotong (*Sepia* sp.) dengan konsentrasi berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Bagaimana pengaruh fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan sotong (*Sepia* sp.) dengan konsentrasi berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*?
3. Daya hambat fraksinat tinta manakah yang paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan sotong (*Sepia* sp.) terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui pengaruh fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan sotong (*Sepia* sp.) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
3. Mengetahui fraksinat tinta manakah yang memiliki daya hambat lebih efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan nantinya dapat dipelajari dan menambah pengetahuan untuk mengetahui bagaimana perbandingan efektivitas daya hambat antibakteri dari tinta cumi-cumi dan sotong fraksi larut etil asetat dan dapat diaplikasikan sebagai salah satu bahan yang berpotensi sebagai antibakteri alternatif.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan pada penelitian ini ialah sebagai berikut:

1. Cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan Sotong (*Sepia* sp.) yang digunakan memiliki panjang tubuh dari ujung sirip hingga tentakel ≥ 14 cm dan berat mencapai ≥ 25 gram.

1.6 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat pengaruh daya hambat pada penggunaan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan sotong (*Sepia* sp.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat pengaruh daya hambat pada penggunaan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan sotong (*Sepia* sp.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelas Cephalopoda

Kelas Cephalopoda dikenal sebagai kelas dari golongan hewan yang memiliki kepala bertentakel, dapat diketahui dari namanya yang berasal dari kata “*kaphale*” yaitu kepala serta “*podos*” yang berarti kaki. Cephalopoda dikenal karena memiliki tentakel yang berjumlah sebanyak delapan buah yang pada tiap-tiap lengannya terdapat batil isap (*sucker*). Batil isap (*sucker*) dapat digunakan untuk menahan serta mencekram mangsa karena Cephalopoda adalah hewan bertubuh lunak yang tidak memiliki tulang sejati. Setiap subkelas juga memiliki lengan *hectocotylus* yang berfungsi untuk membantu proses berkembang biak. Selain *hectocotylus*, ciri khas hewan dari Kelas Cephalopoda dapat mengeluarkan tinta hitam dari tubuh mereka yang berguna sebagai perlindungan diri. Berdasarkan klasifikasinya, terdapat dua jenis subkelas di Kelas Cephalopoda yaitu Nautiloidea dan Coleoidea. Subkelas Coleoidea juga dikenal sebagai salah satu kelas dari bahan makanan yang berasal dari lautan dan diperdagangkan secara luas, subkelas ini terdiri dari tiga ordo yaitu Sepiida, Teuthida, serta Octopoda yang masing-masing ordonya memiliki keunikan (Jereb & Roper, 2005).

2.2 Cumi-cumi (*Loligo* sp.)

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

Cumi-cumi (*Loligo* sp.) berasal dari Kelas Cephalopoda, Ordo Teuthoidea, dan merupakan yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia. Menurut Sudjoko (1988) cumi-cumi adalah salah satu hasil tangkap laut yang dagingnya banyak diminati di dunia. Produksi dari seluruh dunia terhadap cumi-cumi untuk hasil tangkap perairan pada tahun 1945 saja telah mencapai 500.000 ton yang dihasilkan oleh sebanyak 30 negara di dunia dan sebagian besarnya berasal dari Asia terutama Jepang. Cumi-cumi juga dikenal sebagai salah satu konsumsi sumber protein dan mengandung banyak sekali asam amino esensial, asam lemak tak jenuh, juga dapat mengatasi beberapa penyakit seperti arteriosclerosis.



(Sumber: Widiana, 2018)

Tubuh cumi-cumi (gambar 2.1) berbentuk silindris panjang dan meruncing seperti torpedo, hewan jenis ini memiliki sirip berbentuk triangular (segitiga) pada ujung tubuhnya. Ikan-ikan pelagis juga udang-

udangan adalah mangsa utama cumi-cumi sehingga hewan ini tergolong dalam karnivora.

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Mollusca
Class	: Cephalopoda
Order	: Teuthoidea
Family	: Loligonidae
Genus	: <i>Loligo</i>
Species	: <i>Loligo</i> sp. (Jereb & Roper, 2005)

2.3 Sotong (*Sepia* sp.)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Sotong (*Sepia* sp.)

Sotong secara morfologi memiliki perbedaan yang cukup mencolok dengan cumi-cumi, salah satunya yang paling mencolok ialah dari bentuk tubuh. Sotong memiliki bentuk tubuh yang cenderung bulat di ujung dan pipih (gambar 2.2) sedangkan cumi-cumi cenderung menyerupai tabung torpedo.



(Sumber: Tuttle, 2018)

Sotong juga dikenal sebagai perenang yang lebih lambat dibanding saudaranya yang lain dikarenakan lengan tentakelnya yang tidak begitu

panjang serta keberadaan sirip lateral yang membentang dari bagian dorsal hingga ventral (Nateewathana, 1997). Sotong (gambar 2.2) bukan merupakan bahan pangan laut dari Kelas Cephalopoda yang diproduksi dalam jumlah besar, akan tetapi jika ditinjau dari segi harga, harga sotong dapat dikatakan lebih tinggi di pasar internasional apabila dibandingkan cumi-cumi. Sotong biasa ditangkap oleh para nelayan pada malam hari ketika sotong bermigrasi ke perairan dangkal untuk berburu ikan-ikan kecil. Sotong yang cenderung bersifat fototaksis ditangkap oleh para nelayan dengan menggunakan cahaya lampu *petromax* pada sampan yang membuat sotong mendekat (Ghufran & Kordi, 2010).

Kingdom : Animalia
 Phylum : Mollusca
 Class : Cephalopoda
 Order : Sepiida
 Family : Sepiidae
 Genus : *Sepia*

Species : *Sepia* sp. (Jereb & Roper, 2005)

Manusia berhak untuk memanfaatkan makhluk-makhluk yang ada di bumi demi kebaikan mereka. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam QS.Al-Hijr ayat 19-20 yang berbunyi:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ. وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan kami telah menjadikan untuk kamu di bumi sarana kehidupan, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya.

Dalam tafsir Al-Misbah menurut Shihab (2008), Allah SWT telah memberikan banyak hal untuk membantu menunjang kelangsungan hidup manusia. Setiapnya memiliki manfaat berbeda dan beraneka ragam sesuai dengan kebutuhan makhluk hidup lainnya, sebagaimana Alla menghendaki bentuk dan penciptaannya. Ayat tersebut juga menjadi penjelas bahwa apapun yang ebrada di bumi ini telah Allah ciptakan untuk membantu memenuhi kebutuhan manusia meski manusia tidak ikut andil dalam penciptaan, pembentukan, dan kelangsungan hidup makhluk-makhluk tersebut.

2.4 Tinta dari Hewan Kelas Cephalopoda

Indonesia merupakan salah satu negara maritim dengan keanekaragaman hayati perairan yang sangat kaya. Invertebrata laut telah banyak dikenal perannya sebagai sumber yang tinggi akan senyawa protein serta mineral yang bermanfaat bagi manusia. Senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada invertebrata telah diteliti dan banyak digunakan sebagai senyawa bioaktif dalam farmakologis. Cephalopoda yang merupakan anggota dari Filum Moluska dikenal sebagai salah satu penghasil senyawa bioaktif yang populer yang dikenal sebagai tinta. Tinta (senyawa bioaktif) ini diproduksi oleh hewan itu sendiri yang digunakan untuk melindungi diri hewan jenis tersebut dari predator mereka (Vairappan, 2003).

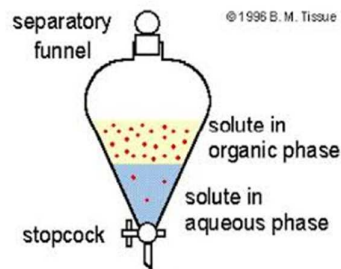
Tinta dari hewan Kelas Cephalopoda memiliki sifat alkaloid seperti senyawa metabolit kebanyakan yang digunakan untuk menjauhkan predator ketika mereka merasa terancam. Tinta ini umumnya berwarna kecokelatan hingga hitam pekat yang disebabkan oleh adanya kandungan zat

melanin. Melanin yang terdapat pada tinta dari hewan Kelas Cephalopoda mampu mengikat protein melalui asam amino yang juga mengandung sulfur sehingga dipertimbangkan dapat menjadi obat antikanker. Menurut Rudiana & Delianis (2004) tinta dari hewan Kelas Cephalopoda memiliki banyak fungsi dalam farmakositika salah satunya dapat menambah daya tahan tubuh sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Tinta yang diperkirakan dapat digunakan sebagai agen antikanker ini kemudian juga diteliti dalam peranannya sebagai antibakteri.

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah salah satu cara untuk melakukan proses isolasi metabolit sekunder dengan konsep pemurnian tiap-tiap kandungan senyawa. Fraksinasi terjadi dengan cara memisahkan senyawa pada fasa cair dengan fasa cair juga. Prosesnya terjadi secara bertingkat dimana senyawa-senyawa akan terpisah berdasarkan sifat kepolarannya antara polar, semipolar, dan nonpolar (Harbone, 1987).

Senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut yang juga bersifat polar, begitu juga sebaliknya yang nonpolar akan larut pada pelarut yang nonpolar (Harborne, 1987). Terdapat dua macam metode yang digunakan untuk fraksinasi yaitu metode kromatografi kolom serta metode yang sederhana adalah corong pisah. Metode kromatografi kolom merupakan metode yang digunakan untuk pemurnian senyawa menggunakan kolom, sedang metode corong pisah (gambar 2.3) adalah metode dengan menggunakan corong pisah untuk memisahkan fasa pelarut yang memiliki massa jenis yang berbeda dalam satu wadah (Haznawati, 2012).



(Sumber: Tissue, 1996)

Pelarut yang digunakan untuk proses fraksinasi dapat berbagai macam baik polar, semi polar, maupun non-polar tergantung zat yang ingin dimurnikan. Contoh pelarut polar yang banyak digunakan untuk fraksinasi adalah metanol, pelarut non-polar yang digunakan adalah n-heksan, serta pelarut semi polar adalah etil asetat. Penggunaan pelarut pada metode ini juga tidak memicu aktivitas toksik pelarut dan zat terlarut terhadap sampel uji (Irfanah, 2014). Salah satu senyawa yang dapat dilarutkan menggunakan pelarut polar, semipolar, maupun non-polar melalui proses ini adalah alkaloid. Alkaloid yang terkandung pada tinta cumi-cumi dan sotong cukup tinggi, semakin non-polar pelarut yang digunakan maka akan semakin spesifik pula senyawa alkaloid yang didapatkan, hal ini dikarenakan semakin terbatasnya senyawa yang larut selain alkaloid pada senyawa nonpolar (Romadanu *et al.*, 2014).

2.6 Antimikroba

Obat-obatan yang digunakan untuk mengatasi problema infeksi yang diakibatkan mikroba disebut dengan antimikroba. Antimikroba memiliki sifat toksisitas selektif yang artinya toksis terhadap mikroorganisme tertentu (khusus) dan tidak memiliki dampak negatif yang berarti bagi inang

yang menggunakannya. Sifat toksisitas selektif pada antimikroba menjadikan antimikroba tidak dapat digunakan secara sembarangan dan harus sesuai anjuran dari tenaga kesehatan (Djide, 2008). Berikut adalah syarat-syarat yang dari antimikroba yang ideal dan aman untuk digunakan oleh manusia :

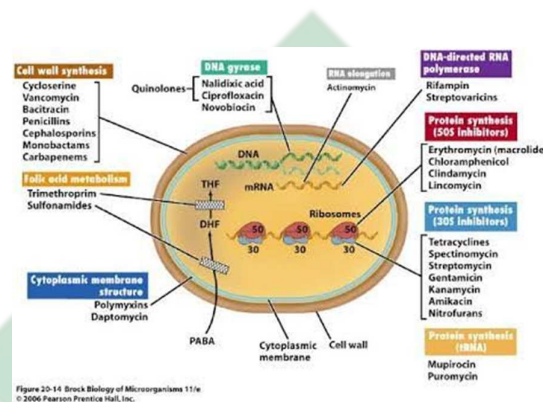
- Memiliki kemampuan toksisitas selektif menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroorganisme pada spektrum luas dan hampir tidak terbatas.
- Senyawa tersebut tidak mengganggu spektrum keseimbangan flora normal dari host yang mengkonsumsi/menggunakannya.
- Tidak mengakibatkan efek samping yang merugikan *host* baik itu yang sederhana seperti hipersensitivitas, iritasi, maupun yang berat seperti kerusakan syaraf.

Antimikroba yang telah ditemukan dan digunakan oleh manusia memiliki banyak jenis seperti antivirus, antibakteri, antiparasit, dan antimikotik. Antibakteri merupakan agen spesifik yang bekerja khusus untuk menangani bakteri tertentu atau beberapa bakteri dalam spektrum luas. Menurut Djide (2008) antibakteri apabila dibedakan berdasarkan sifatnya memiliki dua jenis, yaitu :

- a. Bakteriosida, senyawa/zat antibakteri yang dapat membunuh/mengakibatkan kematian namun tidak mengakibatkan terjadinya lisis pada sel bakteri target.
- b. Bakteriostatika, senyawa/zat yang bekerja dengan cara menghambat atau menghentikan laju pertumbuhan bakteri tetapi tidak dapat membunuh/mengakibatkan kematian dari bakteri target.

2.6.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan pada mekanisme kerja antibakteri (gambar 2.4) dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antibakteri digolongkan sebagai berikut (Radji, 2011) :



Gambar 2. 4 Mekanisme Kerja Antibakteri

(Sumber: Broks, 2006)

- a. Antibakteri yang bekerja dengan menghambat proses sintesis dinding sel bakteri target

Antibakteri jenis ini bekerja dengan melisis dinding sel bakteri yang kemudian mengakibatkan perubahan bentuk serta struktur sel bakteri karena tidak dapat disintesisna dinding sel.

- b. Antibakteri yang bekerja dengan cara mengganggu atau merusak membran sel bakteri target

Membran merupakan sektor utama terjadinya proses biosintesis serta berperan dalam mengatur transportasi metabolit dan nutrisi dari dalam maupun keluar sel. Beberapa jenis antibakteri dapat

mengganggu laju aktivitas keluar dan masuk metabolit dan dapat menyebabkan kerusakan pada membran.

- c. Antibakteri yang mengganggu proses biosintesis asam nukleat pada inti sel bakteri target

Replikasi DNA adalah siklus yang krusial dan penting bagi sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat yang mengakibatkan terganggunya fase-fase pertumbuhan bakteri hingga bakteri tidak dapat berkembang dengan baik.

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri merupakan serangkaian uji yang dilakukan guna mengetahui potensi/peluang sifat antibacterial dari suatu senyawa terhadap pertumbuhan bakteri. Uji ini dilakukan untuk mengetahui efek-efek utama antibakteri seperti daya hambat terhadap pertumbuhan, atau potensi senyawa dalam membunuh mikroorganisme patogen (Zeniusa, 2018). Terdapat dua macam pengujian yang dikenal secara umum dan dilakukan dalam pengujian antimikroba yaitu metode difusi dan metode dilusi.

2.7.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode uji antimikroba yang paling banyak digunakan dalam uji-uji antimikroba dan paling terkenal. Metode ini mengacu pada terjadinya proses perpindahan molekul secara acak suatu zat dari suatu area ke area lain yang juga disebut dengan proses difusi (Djide, 2005). Diameter dari daerah bening yang dikenal dengan zona hambat adalah faktor yang diamati pada metode ini (Brooks *et al.*, 2008).

Metode difusi yang telah dikenal terbagi menjadi beberapa jenis terangkum di bawah ini:

a. Metode *Ditch-plate*

Metode ini dilakukan dengan cara memotong medium agar dengan bentuk membujur persegi dalam sebuah cawan petri, kemudian agen antibakteri yang hendak diujikan diletakkan pada area membujur tersebut. Bakteri yang hendak diujikan diinokulasikan pada area yang sama dengan agen antibakteri kemudian diinkubasi dalam suhu 37°C selama 1 hari, lalu diamati daerah bening atau zona hambat yang terbentuk (Prayoga, 2013).

b. Metode *Cup-plate*

Metode ini dilakukan dengan menginokulasi terlebih dahulu bakteri target pada medium, lalu pada medium tersebut dibuat semacam sumuran. Antibakteri yang hendak diujikan diletakkan dalam sumuran tersebut kemudian diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37°C. Zona bening atau zona hambat pada sekitar sumuran yang diberi antibakteri diamati setelah diinkubasi (Pratiwi, 2008).

c. Metode *E-test*

Metode ini banyak digunakan untuk mengetahui nilai MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri target secara *in vitro*. Alat uji yang digunakan berupa strip plastik yang mengandung agen antibiotik kadar rendah

hingga yang paling tinggi yang kemudian diletakkan di permukaan medium tanam bakteri yang hendak diuji (Pratiwi, 2008).

d. Metode *Disk Diffusion (Kirby Bauer)*

Metode ini dilakukan dengan menggunakan cakram yang telah menyerap agen antibakteri. Proses penyerapan senyawa antibakteri oleh cakram dapat dengan cara diteteskan secara langsung atau direndam selama kurang lebih 15 menit. Cakram yang telah menyerap agen antibakteri yang diujikan kemudian diletakkan pada medium agar yang sebelumnya telah ditanami bakteri yang hendak diuji. Senyawa yang terserap pada kertas cakram akan mengalami proses difusi dari kertas pada media yang telah ditanami bakteri uji hingga terbentuk zona hambat. Zona hambat atau zona bening yang mengelilingi cakram kertas diukur setelah diinkubasi selama 18-24 jam dalam suhu 37°C (Pelczar & Chan, 2007). Zona hambat yang telah muncul setelah inkubasi di sekitar cakram kertas dapat memiliki ukuran diameter yang sangat kecil sehingga membutuhkan alat ukur yang lebih teliti seperti jangka sorong (Fatmawati, 2019).

2.7.2 Metode Dilusi

Metode ini umumnya dilakukan dengan cara menginokulasi atau menanamkan bakteri target pada tabung reaksi. Senyawa antimikroba selanjutnya diinduksikan dalam tabung berisi medium dan suspensi tersebut dan kemudian diinkubasi. Pertumbuhan dari mikroorganisme target

dapat dipantau melalui tingkat kekeruhan dari medium cair yang digunakan. Suhu serta waktu dari proses inkubasi merupakan penentu utama dari keberhasilan metode ini, akan tetapi metode ini dapat dilakukan baik dalam medium cair maupun padat (Prayoga, 2013).

a. Metode dilusi cair (*Broth Dilution Test*)

Metode ini dilakukan dengan mengukur nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Antibakteri yang dimaksudkan untuk diujikan dibuat dalam beberapa macam seri pengenceran yang berbeda-beda kemudian ditambahkan dengan medium uji. Medium yang tampak jernih tanpa perubahan kepekatan pada kadar paling minimum ditetapkan sebagai nilai MIC agen antibakteri tersebut. Medium MIC yang telah ditetapkan kemudian dikultur ulang tanpa menambahkan medium uji dan diinkubasi selama 1 hari, apabila medium kultur baru tetap terlihat jernih, maka konsentrasi antimikroba ditetapkan sebagai MBC (Prayoga, 2013).

b. Metode dilusi padat (*Solid Dilution Test*)

Metode ini dilakukan sama dengan menggunakan metode dilusi cair, akan tetapi metodenya dilakukan terhadap medium padat. Konsentrasi dari antimikroba yang bervariasi dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri sekaligus (Pratiwi, 2008).

2.8 Bakteri *Escherichia coli*

2.8.1 Klasifikasi dan Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli atau dikenal dengan nama *E.coli* merupakan salah satu anggota bakteri gram negatif. Bakteri ini dikenal sebagai bakteri flora normal pada tubuh manusia yang bertahan hidup dalam usus. *E.coli* (gambar 2.3) berasal dari *Family* Enterobacteriaceae yang berbentuk *coccobasil* dengan ukuran 0,4-0,7µm x 1,4 µm yang bersifat anaerob fakultatif. Bakteri *E.coli* bersifat motil dan bergerak dengan menggunakan flagel.

Dinding sel dari bakteri gram negatif umumnya tersusun atas tiga lapisan yakni lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengahnya adalah lipopolisakarida, dan lapisan paling dalam berupa lapisan peptidoglikan. Membran luar dari bakteri gram negatif sendiri lipid, lipopolisakarida, dan protein (Febrika, 2012; Akhita, 2019).

Kingdom : Bacteria

Division : Proteobacteria

Class : Gamaproteobakteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli* (Jawetz *et al.*, 2008)



(Sumber: Shutter, 2018)

Struktur lapisan dari membran luar dapat berpengaruh banyak pada kemampuan patogenitas maupun resistensi bakteri. Hal inilah yang mempengaruhi terdapatnya variasi daya tahan bakteri terhadap suatu senyawa antibakteri yang digunakan untuk pengujian (Hendrayati, 2012).

2.8.2 Patogenesis *Escherichia coli*

Escherichia coli yang menginfeksi manusia pada organ yang tidak benar dan dalam jumlah pesat dapat mengakibatkan gangguan pada organ instestinal dan menyebabkan infeksi pada saluran kemih. Kendati beberapa jenis *E.coli* dapat mengakibatkan patogenesis dan menyebabkan penyakit seperti diare, umumnya strain bakteri ini bersifat nonpatogen. *E.coli* yang bersifat pathogen pada manusia kebanyakan melalui makanan yang terkontaminasi seperti produk olahan yang kurang matang, susu, produk hasil perairan hingga sayuran (Prescott *et al.*, 2008).

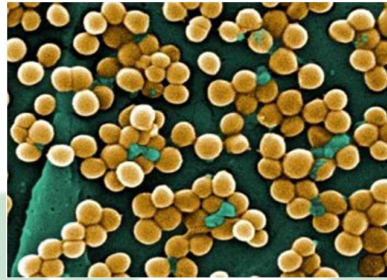
2.9 Bakteri *Staphyococcus aureus*

2.9.1 Klasifikasi dan Morfologi *Staphyococcus aureus*

Staphylococcus aureus (gambar 2.4) adalah anggota dari bakteri gram positif yang memiliki bentuk *coccus* (bulat). Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, tidak motil, tidak berspora dan memiliki diameter berukuran 0,8-1,0 μ m. Daya tahan (resistensi) terhadap suatu senyawa antibakteria dari *S. aureus* lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri lain yang tidak membentuk spora (Radji, 2011).

Staphylococcus aureus memiliki yang merupakan bakteri gram positif mempunyai dinding sel luar yang terbuat dari peptidoglikan yang tebal dan lapisan kandungan lipidnya cukup rendah. Bakteri ini dapat hidup

pada suhu 15-40°C dan umumnya hidup dalam koloni dengan berwarna agak kuning (Radji, 2011).



Gambar 2. 6 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber, Ferron, 2018)

Kingdom : Bacteria
 Division : Firmicutes
 Class : Bacili
 Order : Bacillales
 Family : Staphylococcaceae
 Genus : *Staphylococcus*
 Species : *Staphylococcus aureus* Rosenbach (Todar, 2005)

2.9.2 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* juga merupakan bakteri flora normal yang biasanya terdapat pada kulit, saluran cerna, maupun saluran pernapasan manusia. *Staphylococcus aureus* memiliki toksin yang dapat berdampak negative pada manusia sehingga dapat bersifat patogen (Ciesla & Guerrant, 2003). Toksin bakteri ini dapat menyebabkan keracunan yang

fatal apabila mencapai kadar $1,0\mu\text{m}/\text{gr}$ pada makanan, gejala yang muncul sebagai tanda biasanya berupa mual muntah disertai diare hebat hingga demam (Jawetz *et al.*, 2001). Beberapa penyakit lain yang dapat disebabkan oleh bakteri ini antara lain pneumonia, arthritis septik, meningitis, serta endokarditis (Stark, 2013).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang sering menginfeksi *section* pasca bedah yang membuat *section* tersebut semakin memburuk karena dapat memicu terjadinya bakteremia dan bakteri akan menyebar menginfeksi organ-organ lainnya dalam tubuh (Yuwono, 2010).



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan metode *Kirby Bauer* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Jumlah pengulangan ditentukan dengan menggunakan rumus federer. Perlakuan ada 10 macam, dengan demikian :

$$(n - 1)(k - 1) \geq 15 \dots\dots\dots (1)$$

$$(n - 1)(10 - 1) \geq 15$$

$$9n - 9 \geq 15$$

$$9n \geq 15 + 9$$

$$n \geq 2.6 \text{ (digenapkan menjadi 3)}$$

(1) Keterangan :
n: Banyaknya ulangan
k: Jumlah sampel

Rancangan penelitian dapat dilihat pada tabel 3.1 di bawah ini:

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

Ulangan	Perlakuan									
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆	K ₇	K ₈	K ₉	K ₁₀
1	K ₁ 1	K ₂ 1	K ₃ 1	K ₄ 1	K ₅ 1	K ₆ 1	K ₇ 1	K ₈ 1	K ₉ 1	K ₁₀ 1
2	K ₁ 2	K ₂ 2	K ₃ 2	K ₄ 2	K ₅ 2	K ₆ 2	K ₇ 2	K ₈ 2	K ₉ 2	K ₁₀ 2
3	K ₁ 3	K ₂ 3	K ₃ 3	K ₄ 3	K ₅ 3	K ₆ 3	K ₇ 3	K ₈ 3	K ₉ 3	K ₁₀ 3

Keterangan :

- K₁: Fraksinat etil asetat tinta cumi konsentrasi 20%
- K₂: Fraksinat etil asetat tinta cumi konsentrasi 30%
- K₃: Fraksinat etil asetat tinta cumi konsentrasi 40%
- K₄: Fraksinat etil asetat tinta cumi konsentrasi 50%
- K₅: Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 20%
- K₆: Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 30%
- K₇: Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40%
- K₈: Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 50%
- K₉: Kontrol positif (*Amoxicilin*)
- K₁₀: Kontrol negatif (Aquades)

Rancangan penelitian tersebut digunakan untuk kedua bakteri uji baik *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan tabel rancangan penelitian, satu jenis bakteri terdapat 30 *paper disk* yang diamati hasilnya karena setiap perlakuan mendapat 3 kali ulangan.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan selama melakukan proses penelitian ini yakni corong pisah, biuret, erlenmeyer, batang pengaduk, tabung reaksi, *plate*, *stiring hotplate*, plastik sampel, pisau, talenan, neraca, gelas ukur, *autoclave*, *laminar air flow*, *plate*, jarum ose, *rotary evaporator*, inkubator, bunsen, botol asi, penggaris.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan selama proses analisis ialah media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Manitol Salt Agar* (MSA), media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), tinta cumi-cumi, tinta sotong, etil asetat, pelarut DMSO, *amoxicilin*, aquades, *paper disk*, *plastic warp*, spirtus, kertas label, pulpen F, kertas bekas, plastik tahan panas.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian mulai dari persiapan hingga proses-proses uji terhadap subjek penelitian dilakukan di Laboratorium Terintegrasi UIN Sunan Ampel Surabaya tepatnya di Laboratorium Mikrobiologi selama bulan Februari 2020 - November 2021 seperti yang tertera pada tabel di bawah ini :

Tabel 3.2. Waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan penelitian

No	Keterangan	Waktu (Bulan)															
		2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.	Pembuatan proposal skripsi	█	█	█	█	█											
2.	Seminar proposal					█											
3.	Persiapan alat dan bahan						█	█	█	█	█						
4.	Pengambilan sampel di lapangan							█	█	█	█	█					
5.	Proses uji antibakteri									█	█	█	█				
6.	Analisis data												█				
7.	Penyusunan draft skripsi													█	█	█	█
8.	Sidang skripsi																█

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang berperan pada penelitian ini diantaranya yaitu:

a. Variabel Bebas

Variable bebas pada penelitian ini ialah konsentrasi fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong yang digunakan dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini ialah diameter dari zona hambat.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dari penelitian ini ialah bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*, suhu inkubasi, dan waktu inkubasi.

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap, yaitu sterilisasi dan bahan, fraksinasi tinta, pembuatan konsentrasi fraksinat etil asetat tinta cumi-

cumi, sotong, dan antibiotik, pembuatan media, pembuatan standar *Mc Farland*, preparasi suspensi bakteri, serta uji daya hambat bakteri dengan metode *Kirby Bauer*. Adapun prosedur penelitian terangkum pada diagram alir yang dapat dilihat pada gambar 3.1.

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan terhadap alat-alat yang digunakan untuk penelitian. Cawan petri dibungkus dengan menggunakan kertas kemudian dilapisi plastik tahan panas. Alat-alat yang telah dibungkus kertas dimasukkan ke dalam *autoclave* lalu disterilisasi dengan menggunakan suhu 121°C selama 15 menit menggunakan tekanan 1 atm. Waktu, suhu, dan tekanan ini juga berlaku untuk sterilisasi media-media yang digunakan (Nurhayati, 2011).

3.5.2 Fraksinasi Tinta

Tinta yang digunakan pada penelitian ini adalah tinta yang berasal dari hewan Kelas Cephalopoda yaitu cumi-cumi (*Loligo sp.*) dan sotong (*Sepia sp.*). Cumi-cumi serta sotong pertama-tama dicuci bersih di bawah air mengalir. Cumi-cumi dan sotong yang telah bersih dipindahkan di atas baki untuk kemudian dibedah tubuhnya. Bagian kepala dibedah membujur kemudian dibuka melebar untuk mengeluarkan organ-organ dalam. Organ-organ dalam cumi-cumi dan sotong dipisahkan dalam wadah terpisah, lalu dengan hati-hati bagian kantung tintanya diambil.

Tinta dari kantung tinta tersebut dikeluarkan dengan cara diperas dengan perlahan lalu ditampung dalam botol vial, tidak lupa tiap botol diberi label pembeda antara tinta sotong dan cumi-cumi. Tinta sebanyak

40 mL dimasukkan ke dalam corong pemisah bersama 250 mL aquades dan 250 mL etil asetat kemudian dikocok dengan kuat. Corong pemisah didiamkan agar terjadi pemisahan fasa larut air dan fasa larut etil asetat, kemudian dipisahkan antara yang fasa larut air dan fasa larut etil asetat. Fasa larut etil asetat dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*, apabila hasil fraksinat dari *rotary evaporator* belum cukup kesat, maka dilanjutkan *freeze drying* hingga kandungan pelarut hilang barulah kemudian digunakan dalam pengujian antibakteri (Tairas *et al.*, 2013).

3.5.3 Pembuatan Konsentrasi Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi, Sotong, dan Antibiotik

(a) Konsentrasi Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi dan Sotong

Hasil fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong diencerkan menggunakan DMSO (*dimethyl sulfoxide*) 20%. Untuk mendapatkan larutan stok konsentrasi 50%, digunakan 15 g fraksinat kemudian dilarutkan dalam 30mL DMSO 20%.

Kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat menggunakan DMSO 20% dan menghasilkan konsentrasi 40%, 30%, 20% sebanyak 10 mL tiap konsentrasi berdasarkan perhitungan rumus di bawah ini.

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok (%)

V1 : Volume larutan (mL)

M2 : Konsentrasi larutan yang dibuat (%)

V2 : Volume pelarut (mL)

(b) Konsentrasi Antibiotik *Amoxicilin*

Perlakuan kontrol positif yang digunakan adalah *Amoxicilin*. Satu kapsulnya memiliki berat bersih 250 mg. Konsentrasi *amoxicillin* dibuat sebesar 0,1% dengan cara mengambil sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dalam 10 mL aquades (Maida & Lestari, 2019).

3.5.4 Pembuatan media

Media yang digunakan ada beberapa macam, untuk media selektif bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yaitu dengan menggunakan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk *E.coli* dan *Mannitol Salt Agar* (MSA) untuk *Staphylococcus aureus*, sedangkan untuk uji efektivitas daya hambat adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Berikut ini adalah cara membuat media bakteri uji :

(a) *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)

Media *powder Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) sebanyak 1,12 gram dilarutkan dengan aquades 30 mL dalam erlenmeyer di atas *hotplate*, angkat saat mendidih, lubang tabung ditutup dengan kapas lalu dilapisi aluminium foil, disterilisasi basah dengan *autoclave*, kemudian dituang ±10 mL dalam tabung reaksi di bawah *laminar air flow*, setelah itu tabung reaksi dimiringkan sekitar 45° hingga media mengeras, disinari dengan UV dan disimpan dalam *refrigerator* (Fatmawati, 2019).

(b) *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) *powder* ditimbang sebanyak 3,33 gram dilarutkan dengan aquades 30 mL dalam erlenmeyer di atas *hotplate*, angkat saat mendidih, lubang tabung ditutup dengan kapas lalu dilapisi aluminium foil, disterilisasi basah dengan *autoclave*, kemudian dituang ± 10 mL dalam tabung reaksi di bawah *laminar air flow*, setelah itu tabung reaksi juga dimiringkan sekitar 45° hingga media mengeras, disinari dengan UV dan disimpan dalam *refrigerator* (Sa'diyah, 2012).

(c) *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *powder* MHA ditimbang sebanyak 7,6 gram kemudian dilarutkan dalam 200 mL aquades dalam tabung erlenmeyer. Media dihomogenkan dengan menggunakan *stirrer* di atas *hotplate* hingga mendidih dan berubah warnanya menjadi kuning jernih (Febrianasari, 2018). Setelah media telah mendidih, lubang tabung ditutup dengan kapas lalu dilapisi aluminium *foil* dan dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm (Nurhayati, 2011).

3.5.5 Pembuatan Standar *Mc Farland*

Larutan standar *Mc Farland* yang digunakan sebagai pembanding suspensi bakteri adalah ekuivalen 0.5 atau setara dengan suspensi sel bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Cara pembuatannya dengan menggunakan bahan BaCl_2 1% sebanyak 0,05 mL serta H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL sehingga didapatkan 10 mL larutan standar. Kedua larutan tersebut dicampurkan dan dikocok dengan perlahan hingga menjadi

homogen dan berubah menjadi keruh. Setelah selesai larutan ini dapat disimpan selama kurang lebih 3 bulan dalam *refrigerator* pada suhu 4°C-25°C, harus diletakkan di tempat terlindung dari sinar matahari agar tidak terjadi perubahan pada konsentrasi maupun standar larutan ini (Rahma, 2018; Hasibuan, 2016).

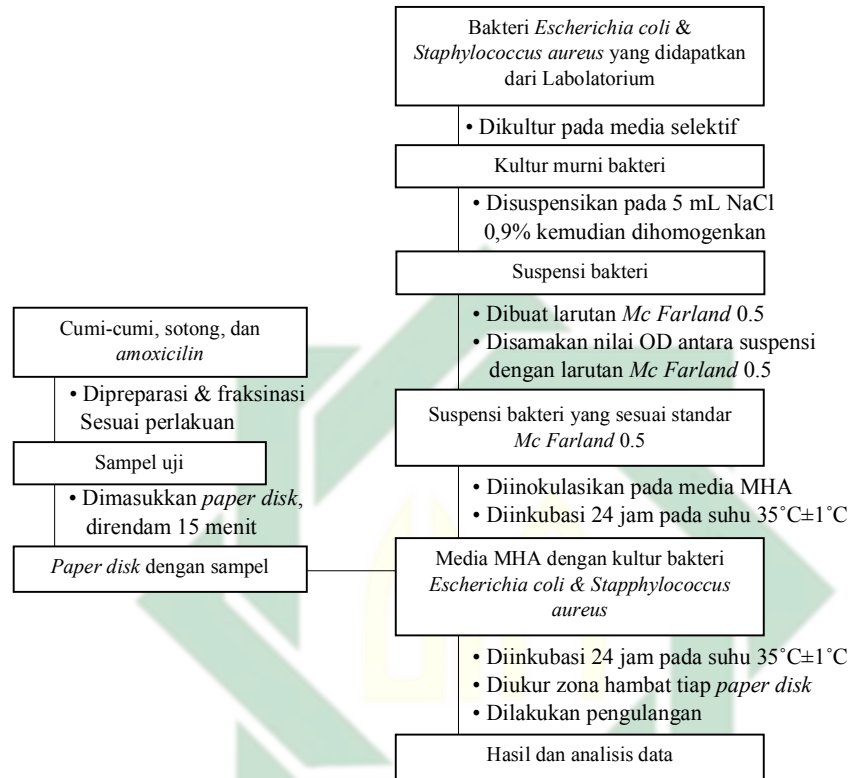
3.5.6 Preparasi Suspensi Bakteri

Bakteri yang telah dikultur pada media selektif diambil sebanyak 1 ose, kemudian disuspensikan ke dalam 5 mL NaCl 0,9% lalu dihomogenkan dengan perlahan. Suspensi yang telah homogen dibandingkan dengan larutan *Mc Farland* yang telah dibuat dengan menggunakan spektrofotometer pada spektrum 625nm (Rahma, 2018; Hasibuan 2016). Jika suspensi telah memiliki nilai yang sama, suspensi siap digunakan untuk uji daya hambat.

3.5.7 Uji Daya Hambat Metode *Kirby Bauer*

Suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah distandar diambil sebanyak 1 mL dituang pada cawan petri bersama 20 mL media MHA, cawan petri kemudian digoyang membentuk angka 8 agar media dan suspensi bakteri homogen kemudian ditunggu hingga memadat. Apabila media telah memadat, *paper disk* yang telah dicelupkan dalam fraksinat tinta cumi-cumi, tinta sotong, aquades, serta *amoxicillin* diletakkan pada permukaan media MHA. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C±1°C kemudian dihitung diameter horizontal dan vertikal (Barus, 2013).

Diagram alir penelitian telah terangkum pada gambar 3.1. Setelah didapatkan data dari prosedur penelitian, data yang telah didapat dianalisis.



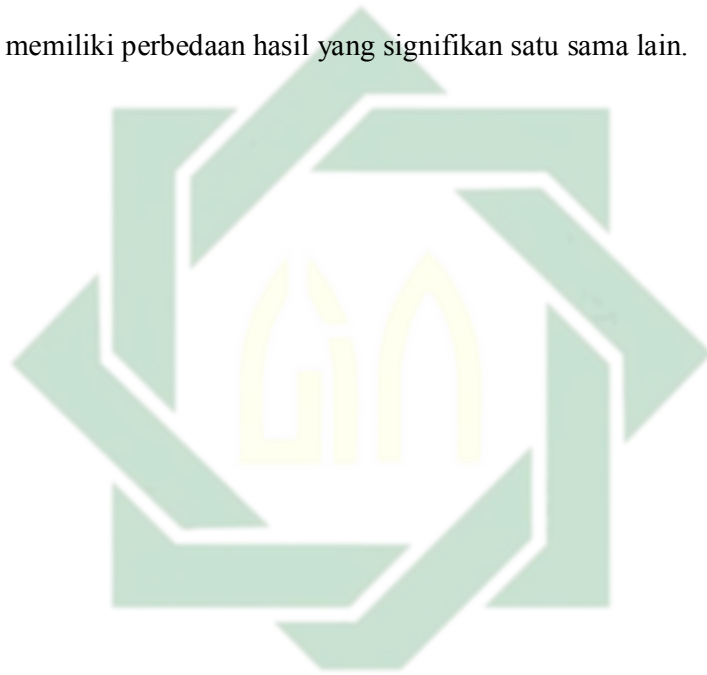
Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

(Sumber: Dokumen Pribadi, 2020)

3.6 Analisis Data

Data perhitungan diameter zona hambat yang didapatkan dari penelitian ini dianalisis secara komparatif atau membandingkan variabel yang terlibat dalam penelitian sedangkan pengamatan terhadap analisis sampelnya dilakukan dengan menggunakan *software* uji statistik SPSS 20.0. Uji yang digunakan pertama kali setelah data didapatkan yaitu uji normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak, untuk uji, akan diamati pada kolom tabel *shapiro-wilk* sebab total sampel berjumlah <50, data

yang didapatkan dinyatakan terdistribusi normal apabila $P \text{ value} > 0,05$. Setelah didapatkan data normalitas dan nilai $P \text{ value} < 0,05$ maka Uji *One Way Anova* tidak dapat dilakukan. Uji yang digunakan adalah Uji Non-Parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan terhadap rata-rata diameter zona hambat. Hasil rata-rata diameter kemudian dilanjutkan pada Uji *Mann Whitney* untuk mengetahui apakah tiap-tiap perlakuan memiliki perbedaan hasil yang signifikan satu sama lain.



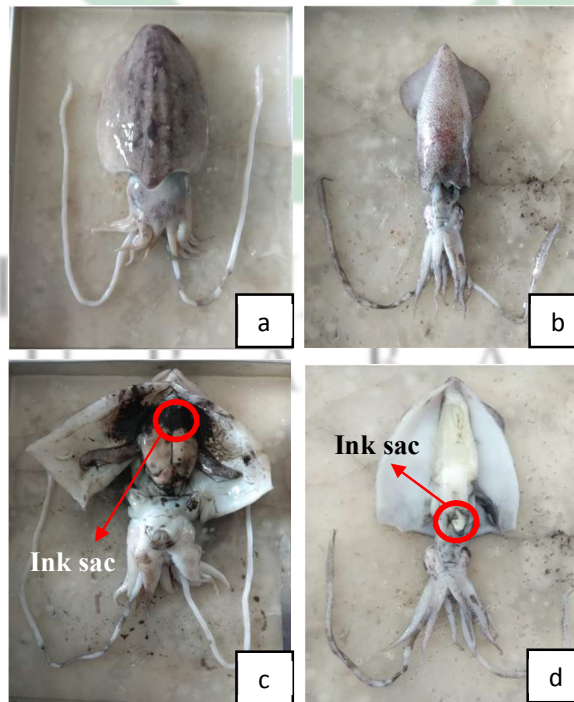
UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Fraksinasi Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*) dan Sotong (*Sepia sp.*)

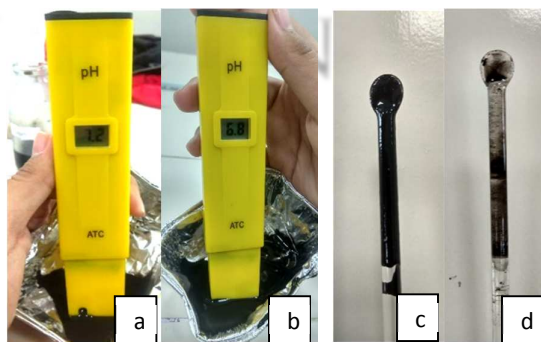
Cumi-cumi (*Loligo sp.*) dan sotong (*Sepia sp.*) merupakan spesies dari anggota kelas cephalopoda yang dapat menghasilkan tinta. Cumi-cumi dan sotong yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari wilayah perairan Jumiang di Desa Pademawu, Kabupaten Pamekasan, Madura dalam keadaan segar setelah ditangkap oleh nelayan. Untuk menghindari cumi-cumi dan sotong menyemburkan tinta sebelum perlakuan, cumi-cumi dan sotong disimpan dalam *coolbox* bersama es batu sehingga membeku. Cumi-cumi dan sotong dibedah secara horizontal seperti pada gambar 4.1. dan dicari letak kantung tintanya.



Gambar 4.1. Morfologi; (a - c) Sotong, (b - d) Cumi-cumi
(Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Tinta dari cumi-cumi dan sotong diambil langsung dari kantong tinta dan diperas secara perlahan ke dalam botol ASI. Kendati sama-sama tinta dari hewan Kelas Cephalopoda, tinta dari cumi-cumi dan sotong memiliki karakteristik fisika dan kimiawi yang berbeda. Tinta yang dihasilkan oleh cumi-cumi bersifat lebih cair, sedangkan tinta dari sotong lebih seperti *essence* dan memiliki gumpalan-gumpalan yang merupakan kumpulan melanin. Chen *et al.* (2009) dan Mbonnyiriruve *et al.* (2015) telah mengkonfirmasi bahwa tinta sotong memiliki melanin berupa agregat-agregat halus dengan ukuran berkisar 100-200nm, sedangkan ukuran butiran melanin pada tinta cumi-cumi lebih kecil lagi yaitu berkisar 50-150nm. Hal tersebut menjelaskan bahwa tinta cumi-cumi lebih halus dibanding sotong.

Tinta cumi-cumi memiliki warna yang cenderung keabu-abuan sedangkan tinta sotong hitam pekat. Tinta sotong memiliki derajat keasamannya lebih basa yaitu 7.2 seperti yang telah diungkap oleh Ahmed *et al.* (2018). Hal tersebut karena tinta sotong memiliki kandungan alkaloid yang lebih tinggi (Affandi *et al.*, 2019).



Gambar 4.2. Perbedaan karakteristik pH dan kepekatan; (a - c) Sotong, (b - d) Cumi-cumi (Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Tingginya kandungan alkaloid juga mengakibatkan tinta sotong memiliki aroma alkali yang lebih kuat dibanding aroma amis sehingga aroma

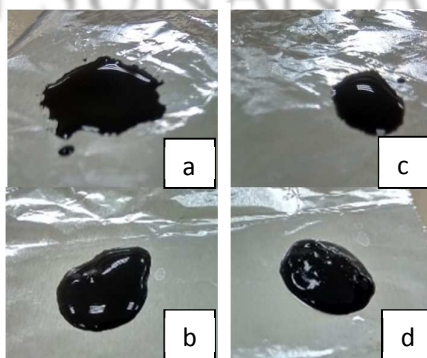
tintanya sangat khas. Tinta cumi-cumi memiliki pH 6.8 atau 0.4 lebih tinggi dibanding yang diungkap oleh Affandi *et al.* (2019). Berbeda dengan tinta sotong, tinta cumi tidak memiliki aroma khas dan hanya tercium bau amis. Perbedaan karakteristik dari tinta cumi dan sotong dapat dilihat pada gambar 4.2. di atas.

Tinta sotong dan cumi-cumi kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan aquades. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar dan memiliki titik didih yang cukup rendah yaitu 77°C sehingga dapat menghindari kemungkinan senyawa-senyawa aktif dalam tinta sotong dan cumi-cumi menjadi rusak karena proses pemanasan. Seperti yang telah dijelaskan oleh Guenther (1987) bahwa pelarut dapat sangat mempengaruhi terjadinya proses fraksinasi dan senyawa yang dihasilkan sehingga dalam melakukan pemilihan pelarut dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti selektivitas (apakah pelarut dapat melarutkan senyawa-senyawa dalam zat dengan sempurna), titik didih yang tidak tinggi agar fraksinat tidak rusak, pelarut yang tidak mudah terlarut dalam air karena memiliki polaritas yang berbeda, serta memiliki sifat inert yang tidak mudah bereaksi dengan komponen-komponen lain dengan senyawa yang akan difraksinasi. Etil asetat telah dapat memenuhi semua karakteristik tersebut dengan baik.

Pemilihan metode fraksinasi adalah dengan mempertimbangkan faktor volume tinta pada hewan cephalopoda yang tidak banyak. Murrukmihadi & Afiyati (2013) mengungkap bahwa fraksinasi cocok dilakukan untuk mendapatkan senyawa ekstrak yang diinginkan dalam jumlah yang lebih banyak namun dengan kemurnian yang lebih tinggi. Konsep pada metode

fraksinasi adalah melarutkan senyawa sesuai dengan tingkat kepolaran mengikuti tingkat kepolaran pelarut yang digunakan, maka senyawa-senyawa polar yang terkandung dalam tinta seperti air akan terlarut dalam aquades, sedangkan senyawa yang semipolar-nonpolar seperti alkaloid akan larut bersama etil asetat (Harbone, 1987). Ketika terjadi pemisahan fasa cair-cair dengan etil asetat dan aquades, tinta cumi dan sotong dapat larut dengan mudah pada kedua tipe pelarut tersebut. Setelah didiamkan selama kurang lebih tiga jam, terjadi pemisahan fasa larut etil asetat pada lapisan atas yang berwarna hitam dan bertekstur seperti endapan, sedangkan dengan fasa larut air keruh.

Sebelum kandungan pelarutnya diuapkan, tinta hasil proses fraksinasi dengan etil asetat memiliki tekstur lebih cair dan mudah menyebar dapat dilihat seperti pada gambar 4.3 (a dan c), fraksinat juga lebih licin saat disentuh dengan tangan dan memiliki aroma khas etil asetat yang sangat kuat. Fraksinat yang kandungan pelarutnya telah dihilangkan melalui proses evaporasi dan digunakan dalam proses uji memiliki perbedaan tekstur menjadi lebih kental (b dan d).



Gambar 4.3. Perubahan kekentalan tekstur tinta; (a)Fraksinat tinta cumi-cumi sebelum dievaporasi, (b)Fraksinat tinta cumi-cumi sesudah dievaporasi, (c)Fraksinat tinta sotong sebelum dievaporasi, dan (d)Fraksinat tinta sotong sesudah dievaporasi
(Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Fraksinat tinta cumi memiliki kekentalan seperti madu sedangkan fraksinat tinta sotong lebih menyerupai pasta. Kedua fraksinat memiliki warna hitam karena adanya kandungan melanin. Aroma yang dikeluarkan oleh kedua fraksinat berubah menjadi amis dan sedap seperti aroma masakan, namun aroma dari fraksinat sotong masih memiliki aroma anyir alkali.

Tabel 4.1. Nilai rendemen fraksinat

Simplisia	Volume (mL)	Berat Tinta (gram)	Berat Fraksinat Kental (gram)	Rendemen (%)
Cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.)	40	57,6	8,5	14,7%
Sotong (<i>Sepia</i> sp.)	40	60,3	9,4	15,5%

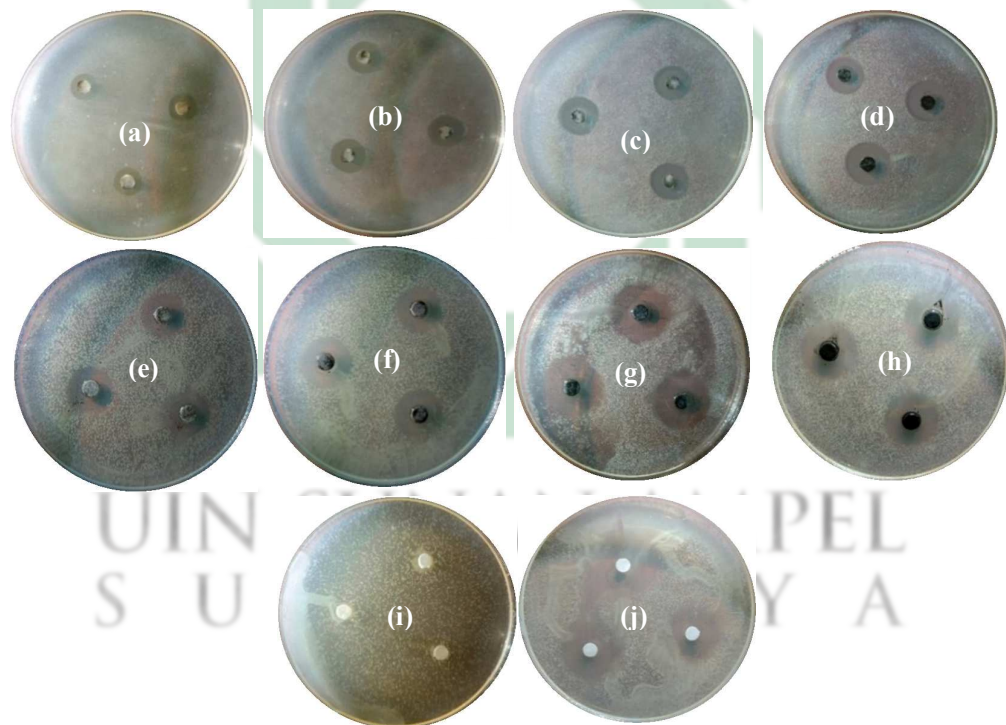
Perhitungan rendemen pada tabel 4.1 menunjukkan hasil bahwa nilai rendemen fraksinat tinta sotong menunjukkan nilai yang lebih besar yaitu 15,5% dibandingkan dengan fraksinat tinta cumi yaitu 14,7%. Tingginya nilai rendemen pada fraksinat tersebut menunjukkan jika kandungan senyawa-senyawa bioaktif yang terlarut pada fraksinat sotong lebih banyak dibandingkan fraksinat cumi yang memiliki rendemen rendah (Dewatisari, 2017). Derby (2014) mengungkap bahwa kandungan melanin dalam kantong tinta hewan cephalopoda dapat mencapai berat maksimal 1 gr dari berat total kantong tinta 4 gr untuk ukuran cephalopoda dewasa. Rendemen yang didapat telah sesuai seperti yang dikutip oleh Wang *et al.* (2014), nilai rendemen kandungan melanin dapat mencapai $\pm 15\%$ dari berat awal.

Hernani *et al.* (2007) mengungkap bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah ukuran simplisia. Semakin kecil ukuran simplisia maka senyawa-senyawa dalam zat tersebut akan semakin mudah

diekstrak karena semakin halus. Tinta sotong dan cumi-cumi memiliki wujud cair sehingga senyawa bioaktif lain berbentuk senyawa terlarut, adapun komposisi melanin pada tinta sotong lebih banyak dan berdiameter lebih besar dibandingkan cumi-cumi sehingga mempengaruhi berat rendemen secara signifikan antara sotong dan cumi-cumi.

4.2 Uji Daya Hambat Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi dan Sotong terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil uji daya hambat fraksinat etil asetat tinta cumi dan sotong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat seperti pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Hasil uji fraksinat etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*;
 (a) fraksinat cumi-cumi 20%, (b) fraksinat cumi-cumi 30%, (c) fraksinat cumi-cumi 40%, (d)
 fraksinat cumi-cumi 50%, (e) fraksinat sotong 20%, (f) fraksinat sotong 30%,
 (g) fraksinat sotong 40%, (h) fraksinat sotong 50%, (i) kontrol negatif,
 (j) kontrol positif *Amoxicilin*
 (Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Berdasarkan gambar 4.4 Hasil menunjukkan bahwa fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong memiliki efek daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* karena terbentuknya zona bening di sekitar *paper disk*. Zona hambat yang terbentuk di sekitar *paper disk* juga memiliki diameter yang berbeda-beda tergantung pada konsentrasi dan jenis dari fraksinat yang digunakan. Besar diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Nilai Rata-rata zona hambat \pm standar deviasi terhadap bakteri *Styaphylococcus aureus*

Perlakuan	Rata-Rata Diameter (mm) \pm SD	Kategori	Mean Rank (Kruskal Wallis)
K ₁	4 \pm 0	Sedang	5,00
K ₂	6 \pm 0	Sedang	8,50
K ₃	7,66 \pm 0,57	Kuat	14,33
K ₄	9,33 \pm 1.15	Kuat	19,83
K ₅	6,66 \pm 0,57	Kuat	10,83
K ₆	9 \pm 1	Kuat	18,67
K ₇	11,83 \pm 0,28	Kuat	26,00
K ₈	9,66 \pm 0,57	Kuat	20,83
K ₉	14,3 \pm 0,57	Kuat	29,00
K ₁₀	0 \pm 0	Tidak ada	2,00
Nilai Signifikasi <i>Kruskal Wallis</i>			0.001

Keterangan:

K₁ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20%

K₂ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 30%

K₃ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 40%

K₄ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 50%

K₅ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 20%

K₆ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 30%

K₇ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40%

K₈ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 50%

K₉ : Kontrol positif (*Amoxicillin*)

K₁₀ : Kontrol negatif

Mean rank: Peringkat nilai rata-rata diameter zona hambat (semakin besar nilainya semakin bagus)

Berdasarkan data dari tabel 4.2 dapat diketahui bahwa nilai rata-rata diameter zona hambat dari fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% berturut-turut adalah 4 mm, 6mm, 7,66 mm, dan 9,33 mm. Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dengan nilai diameter tertinggi adalah pada konsentrasi 50% dan terendah pada 20%. Fraksinat etil asetat tinta sotong dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% berturut-turut adalah 6,66 mm, 9 mm, 11,83 mm, dan 9,66 mm. Fraksinat etil asetat tinta sotong tertinggi adalah pada konsentrasi 40% dan merupakan konsentrasi tertinggi untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan terendah pada konsentrasi 20%.

Terbentuknya zona hambat di sekitar *paper disk* disebabkan karena tinta cumi-cumi dan sotong bersifat alkaloid, memiliki beberapa kandungan seperti melanin, protein, lemak, glikosaminoglikan, serta beberapa asam amino seperti lisin, leusin, arginin, dan fenilalanin (Agusandi *et al.*, 2013). Alkaloid merupakan bagian dari metabolit sekunder. Alkaloid memiliki sifat basa dan beratom nitrogen. Beberapa senyawa alkaloid telah dikenal memiliki manfaat pengobatan seperti anti-inflamasi, anti-hipertensi, anti-diare, anti-mikroba, bahkan anti-tumor, selain itu kandungan melanin yang terdapat di tinta juga berperan sebagai anti-oksidan (Lei *et al.*, 2007^a) dan antiradiasi (Lei *et al.*, 2007^b). Menurut Mimura *et al.* (1982), kandungan melanin yang terkandung pada cumi-cumi dan sotong dapat mencapai 20% dari seluruh kandungan senyawa yang lain. Kandungan melanin pada cephalopoda umumnya berbentuk butiran melanoprotein dimana ukuran melanoprotein

tersebut berbeda antar genus atau spesies. Melanin yang terdapat pada tinta hewan cephalopoda terdiri dari DHI (5.6-dihydroxyndole), DHICA (5.6-dihydroxy-indole-2-carboxylic-acid), serta 2-carboxyl indole. Melanin dapat mengikat Fe^{2+} sehingga dapat menghambat proses oksidasi yang berpengaruh terhadap lipid sel (Nasution *et al.*, 2017), menghambat aktivitas plasmin (Zhang *et al.*, 2009), dan mengakibatkan aktivitas metabolisme bakteri terganggu.

Penggunaan tinta cumi-cumi dan sotong dalam penelitian sebagai agen antibakteri sudah pernah dilakukan sebelumnya. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini sejalan dengan penelitian Fitriani dan Khotimah (2017) yang menunjukkan bahwa tinta sotong (*Sepia* sp.) memiliki daya hambat yang lebih baik dibandingkan dengan tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.). Penelitian dari Nithya *et al.* (2011) juga menunjukkan bahwa tinta dari sotong (*Sepia pharaonis*) yang diekstrak menggunakan pelarut nonpolar kloroform juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan diameter mencapai 10 mm, sedangkan Rahayu *et al.* (2019) menunjukkan jika ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang diekstrak menggunakan HCl memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter 7-9 mm sehingga memiliki sensitivitas yang tergolong himedia.

Pada perlakuan kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat di sekitar *paper disk* menunjukkan jika kontrol negatif tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol positif *amoxicillin* 0,1% diameter yang terbentuk mencapai 14,3 mm. Menurut Maidah & Lestari (2019) zona hambat yang dibentuk oleh *amoxicillin* terhadap bakteri

Staphylococcus aureus memang tergolong pada golongan intermediet dengan diameter berkisar 14 - 16mm. *Amoxicilin* merupakan salah satu antibiotik spektrum luas yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri (Tairas *et al.*, 2013) sehingga dinding sel tidak terbentuk dengan sempurna. Bakteri kemudian melakukan penyerapan air melalui osmosis yang justru membuat tekanan osmotik internal pada bakteri lebih tinggi 3-5 kali dibandingkan tekanan eksternal (Rao *et al.*, 2011).

Kategori zona hambat dari fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong bervariasi. Pada fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20% dan 30% menunjukkan kategori sedang, sedangkan pada fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 40%, 50% dan fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 20% - 50% menunjukkan kategori kuat walau nilai diameternya tidak sebesar kontrol positif amoxicillin. Pan *et al.* (2009) mengategorikan kekuatan antibakteri menjadi empat macam berdasarkan besarnya diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling *paper disk*, yaitu kategori 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri), 0 – 3 mm (kategori lemah), 3 - 6 mm (kategori sedang), dan terakhir adalah > 6 mm (kategori kuat).

Data diameter tersebut kemudian diolah dengan *software* uji statistik SPSS 20.0 (Lampiran 3). Sebelum menggunakan Uji *Kruskall wallis*, dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data yang didapat dari penelitian bersifat normal dan homogen seperti yang diungkap oleh Walpole (1995). Berdasarkan uji normalitas, nilai signifikan *p value* < 0,05, sehingga Uji *One Way Anova* tidak dapat dilakukan. Uji yang dapat dilakukan apabila syarat untuk melakukan uji tidak terpenuhi adalah

menggunakan uji alternatif non-parametrik *Kruskall Wallis*. Uji *Kruskall Wallis* adalah salah satu uji non parametrik yang digunakan apabila data tidak terdistribusi normal (Walpole, 1995).

Hasil yang didapatkan dari Uji *Kruskall Wallis* menunjukkan jika nilai signifikan adalah 0,001 ($< 0,05$) sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima; jenis konsentrasi berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling *paper disk*. Nilai *mean rank* tertinggi adalah pada fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40% dengan nilai 26,00, sedangkan terendah adalah pada fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20% dengan nilai 5,00. Terjadinya kenaikan atau penurunan diameter zona hambat fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong terhadap bakteri *S.aureus* dapat dilihat pada gambar 4.5. Nilai diameter zona hambat yang didapatkan kemudian dilanjutkan pada Uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan pengaruh tiap-tiap konsentrasi ekstrak, hasil yang didapatkan seperti pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil Uji *Mann Whitney* diameter zona hambat fraksinat etil asetat tinta cumi dan sotong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆	K ₇	K ₈	K ₉
K ₁	1	0.025	0.034	0.034	0.034	0.037	0.034	0.034	0.034
K ₂	0.025	1	0.034	0.034	0.114*	0.037	0.034	0.034	0.034
K ₃	0.034	0.034	1	0.099*	0.099*	0.105*	0.043	0.043	0.043
K ₄	0.034	0.034	0.099*	1	0.043	0.637*	0.043	0.796*	0.043
K ₅	0.034	0.114*	0.099*	0.043	1	0.046	0.043	0.043	0.043
K ₆	0.037	0.037	0.105*	0.637*	0.046	1	0.046	0.346*	0.046
K ₇	0.034	0.034	0.043	0.043	0.043	0.046	1	0.043	0.043
K ₈	0.034	0.034	0.043	0.796*	0.043	0.346*	0.043	1	0.043
K ₉	0.034	0.034	0.043	0.043	0.043	0.046	0.043	0.043	1

Keterangan:

(*)Tidak ada perbedaan

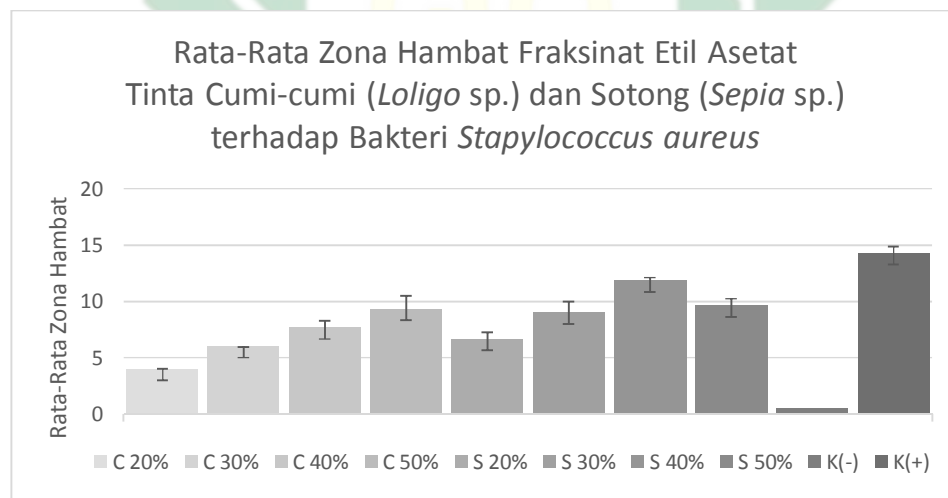
K₁ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20%

- K₂ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 30%
 K₃ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 40%
 K₄ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 50%
 K₅ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 20%
 K₆ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 30%
 K₇ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40%
 K₈ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 50%
 K₉ : Kontrol positif (*Amoxicillin*)

Hasil Uji *Mann Whitney* seperti pada tabel 4.3 menunjukkan hasil yang berbeda-beda untuk tiap konsentrasi ekstrak. Nilai *p value* yang $< 0,05$ menunjukkan apabila kedua konsentrasi ekstrak tersebut tidak memiliki perbedaan diameter zona hambat yang signifikan satu sama lain. Apabila nilai *p value* yang didapatkan $> 0,05$ maka menunjukkan bahwa kedua konsentrasi ekstrak tersebut memiliki perbedaan diameter zona hambat yang signifikan (Walpole, 1995). Beberapa perlakuan yang tidak memiliki perbedaan nilai rata-rata diameter zona hambat signifikan adalah perlakuan K₃ dengan K₅ yang memiliki nilai signifikansi 0.114, perlakuan K₃ dengan K₄, serta K₃ dengan K₅ yang memiliki nilai signifikansi 0,099, dan beberapa perlakuan lain. Beberapa perlakuan yang memiliki perbedaan nilai rata-rata diameter zona hambat yang signifikan adalah perlakuan K₁ dengan K₂ yang memiliki nilai signifikansi 0.025, perlakuan K₂ dengan K₃ yang memiliki nilai signifikansi 0.034, perlakuan K₅ dengan K₆ yang memiliki nilai signifikansi 0.043, dan beberapa perlakuan lainnya.

Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling *paper disk* dapat dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi-konsentrasi didapat melalui proses pengenceran fraksinat sehingga total kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder tiap-tiap konsentrasi

fraksinat memiliki keefektifan yang berbeda. Ornay *et al.* (2017) menyatakan jika konsentrasi juga berpengaruh terhadap daya hambat yang terbentuk. Semakin tinggi konsentrasinya, maka semakin baik pula daya hambatnya karena kandungan senyawa-senyawa yang berperan sebagai antibakteri semakin banyak dan tinggi. Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan dengan konsentrasi terendah seperti K₁ dan K₅ (konsentrasi 20%) memiliki nilai diameter zona hambat yang tergolong rendah dengan kategori lemah-sedang. Diameter zona hambat kemudian mengalami peningkatan ke kategori kuat pada konsentrasi yang semakin meningkat. Diameter zona hambat mengalami penurunan nilai pada fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 50% seperti yang terlihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Rata-rata diameter zona hambat fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong terhadap bakteri *S.aureus* mengalami kenaikan dan penurunan yang berbeda tiap konsentrasi; (C) cumi-cumi, (S) sotong, (K) kontrol.
(Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Menurut Soleha (2015) dalam Trisia (2018) penurunan nilai diameter zona hambat pada konsentrasi yang tinggi dapat dikarenakan tiap senyawa memiliki konsentrasi efektif yang berbeda-beda, selain itu diameter zona hambat yang terbentuk pada metode difusi juga dipengaruhi oleh beberapa hal

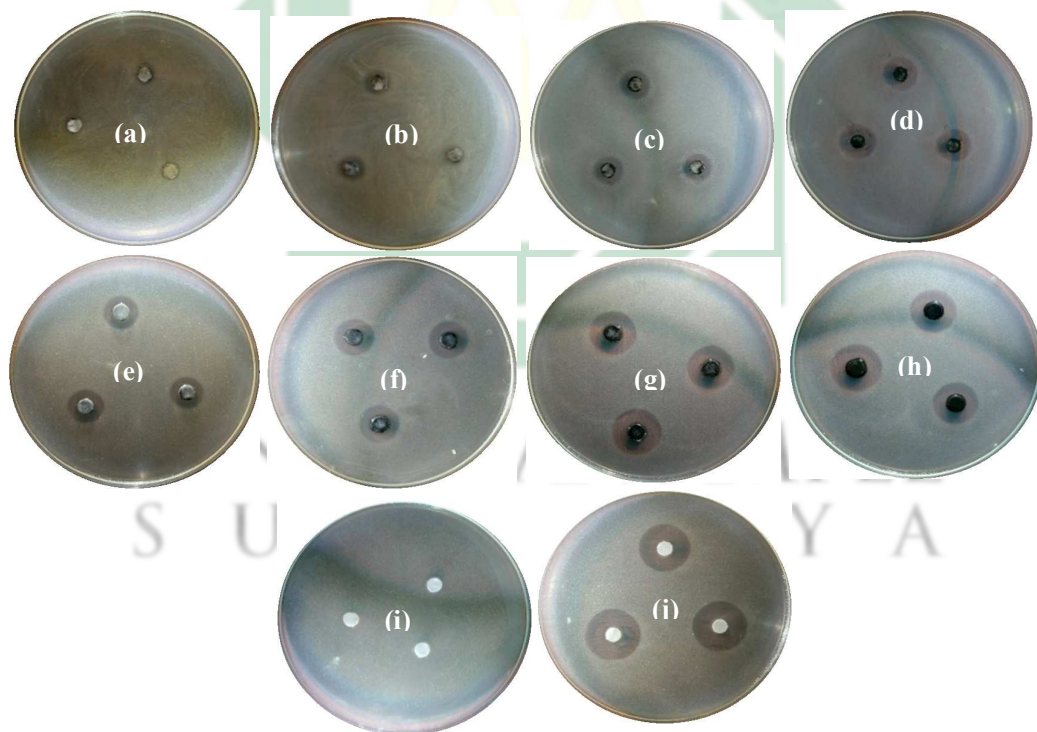
seperti kecepatan difusi senyawa antibakteri, kecepatan pertumbuhan bakteri (Koneman, 2006; Soleha, 2015). Selain itu, besarnya diameter zona hambat juga dipengaruhi viskositas dari ekstrak yang digunakan. Semakin tinggi viskositasnya maka proses difusi dari senyawa antibakteri ke dalam media agar yang digunakan dalam uji juga akan semakin rendah (Masyithah & Herman, 2015).

Hasil menunjukkan jika bakteri *Staphylococcus aureus* lebih sensitif terhadap fraksinat etil asetat tinta sotong dibandingkan dengan cumi-cumi. Koneman (2006) dalam Soleha (2015) mengungkap bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat adalah derajat sensitivitas bakteri. Nilai rata-rata diameter zona hambat bakteri *S.aureus* menggunakan fraksinat etil asetat tinta sotong lebih tinggi dibandingkan dengan cumi-cumi sehingga tinta sotong lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Fitriah dan Khotimah (2017) telah melakukan penelitian uji anti bakteri menggunakan ekstrak HCl tinta sotong dan cumi-cumi terhadap bakteri *Escherichia coli*, hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak HCl tinta sotong memiliki nilai diameter penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan tinta cumi-cumi. Ukuran butiran melanin pada sotong lebih besar dibandingkan pada cumi-cumi, hal ini mempengaruhi beberapa kualitas pada tinta sotong dan cumi-cumi, yaitu tinta sotong lebih pekat, memiliki luas permukaan yang lebih besar, juga bersifat lebih basa (Hernani *et al.*, 2007). Fraksinat etil asetat tinta sotong memiliki keunggulan dibandingkan dengan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dalam penelitian ini. Setiap persentase konsentrasi memiliki nilai diameter zona hambat yang berbeda-

beda. Hasil penelitian menunjukkan jika fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40% lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.3 Uji Daya Hambat Fraksinat Etil Asetat Tinta Cumi-cumi dan Sotong terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Uji daya hambat fraksinat etil asetat tinta cumi dan sotong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat seperti pada gambar 4.4. Berdasarkan gambar 4.6 dapat diamati bahwa fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi mampu merubah warna *paper disk* menjadi semakin hitam semakin tingginya konsentrasi, demikian juga pada sotong.



Gambar 4.6. Hasil uji fraksinat etil asetat terhadap bakteri *Escherichia coli*; (a) fraksinat cumi-cumi 20%, (b) fraksinat cumi-cumi 30%, (c) fraksinat cumi-cumi 40%, (d) fraksinat cumi-cumi 50%, (e) fraksinat sotong 20%, (f) fraksinat sotong 30%, (g) fraksinat sotong 40%, (h) fraksinat sotong 50%, (i) kontrol negatif, (b) kontrol positif *amoxicilin*
(Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Hasil menunjukkan jika fraksinat memiliki efek daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* karena terbentuknya zona bening di sekitar *paper disk*. Zona hambat yang terbentuk di sekitar *paper disk* juga memiliki diameter yang berbeda-beda tergantung pada konsentrasi dan jenis dari fraksinat yang digunakan. Besar diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada tabel 4.4.

Berdasarkan data dari tabel 4.4 dapat diketahui jika fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% berturut-turut adalah 2 mm, 2,66 mm, 4,33 mm, dan 5,66 mm. Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dengan diameter terbaik adalah pada konsentrasi 50% dan terendah pada 20%. Fraksinat etil asetat tinta sotong dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% berturut-turut adalah 3,6 mm, 6 mm, 8 mm, dan 7,66 mm. Fraksinat etil asetat tinta sotong terbaik adalah pada konsentrasi 40% dengan nilai diameter 8mm dan merupakan konsentrasi terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian uji antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan tinta sotong dan cumi-cumi yang diekstrak menggunakan pelarut HCl telah dilakukan oleh Fitriani dan Khotimah (2017). Hasil penelitian dari Fitriani dan Khotimah (2017) menunjukkan jika melanin dari tinta sotong (*Sepia* sp.) memiliki aktivitas daya hambat yang lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan melanin dari tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.).

Zona hambat di sekitar *paper disk* tidak terbentuk pada perlakuan kontrol negatif menunjukkan jika kontrol negatif tidak mempengaruhi

pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol positif *amoxicillin* 0,1% diameter yang terbentuk mencapai 14 mm. Menurut Maidah & Lestari (2019) zona hambat yang dibentuk oleh *amoxicillin* terhadap bakteri *Escherichia coli* memang tergolong pada golongan intermediet dengan diameter berkisar 14 - 16mm karena *amoxicillin* memang bersifat bactericidal terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.

Tabel 4.4. Nilai Rata-rata zona hambat \pm standar deviasi terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Rata-Rata Diameter (mm) \pm SD	Kategori	Mean Rank (Kruskal Wallis)
K ₁	2 \pm 0	Lemah	5,50
K ₂	2,66 \pm 0,57	Lemah	8,17
K ₃	4,33 \pm 1,15	Sedang	12,83
K ₄	5,66 \pm 0,28	Sedang	17,50
K ₅	3,6 \pm 0,57	Sedang	11,50
K ₆	6 \pm 0	Sedang	19,50
K ₇	8 \pm 0	Kuat	25,00
K ₈	7,66 \pm 1,15	Kuat	24,00
K ₉	14 \pm 0	Kuat	29,00
K ₁₀	0 \pm 0	Tidak ada	2,00
Nilai Signifikan <i>Kruskal Wallis</i>			0,001

Keterangan:

K₁ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20%

K₂ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 30%

K₃ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 40%

K₄ : Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 50%

K₅ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 20%

K₆ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 30%

K₇ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40%

K₈ : Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 50%

K₉ : Kontrol positif (*Amoxicillin*)

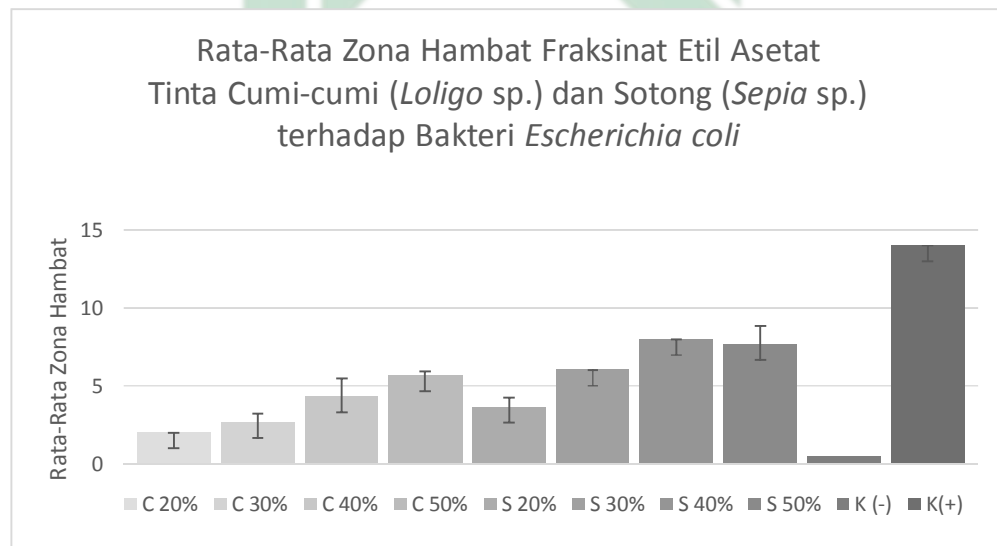
K₁₀ : Kontrol negatif

Mean rank: Mean rank: Peringkat nilai rata-rata diameter zona hambat (semakin besar nilainya semakin bagus)

Kategori zona hambat dari fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong juga bervariasi. Fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20% dan 30% menunjukkan kategori lemah, sedangkan pada fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 40% - 50% dan fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 20% - 30% menunjukkan kategori sedang, lalu untuk fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40% - 50% menunjukkan kategori kuat, walau nilai diameternya tidak sebesar kontrol positif *amoxicillin*. Terdapatnya kategori lemah pada penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi menunjukkan jika fraksinat etil asetat ini kurang sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut dipengaruhi oleh perbedaan gram dari kedua bakteri. *Staphylococcus aureus* tergolong sebagai bakteri gram positif yang memiliki struktur lapisan dinding sel yang berbeda dengan *E.coli* yang merupakan bakteri gram negatif.

Jawetz *et al.* (2005) mengungkap jika perbedaan struktur dinding sel pada bakteri gram positif dan negatif dapat mempengaruhi kemampuan penetrasi, ikatan yang terjadi, juga aktivitas dari antibakteri yang digunakan terhadap sel. Dinding sel bakteri gram positif memiliki lebih sedikit kandungan lipid (1 - 4%), lebih banyak kandungan peptidoglikan (mencapai 50%), mengandung polisakarida dengan susunan sel yang kompak (Pelczar & Chan, 2006; Pratiwi, 2008; Lestari *et al.*, 2020). Lapisan peptidoglikan dari bakteri gram positif berada pada membran terluar, hal tersebut menyebabkan fraksinat yang bekerja aktif dalam menghambat sintesis dinding sel (lipid) lebih peka terhadap bakteri *S.aureus* dibanding *E.coli*.

Bakteri *E.coli* termasuk dalam golongan bakteri gram negatif dengan komposisi peptidoglikan sebesar 10%, kandungan lipidnya cukup tinggi (11 - 22%), dilengkapi dengan asam lemak serta protein, susunan dinding selnya pun tidak kompak akan tetapi lebih kompleks. Lapisan peptidoglikannya terdapat pada membran plasma bagian dalam dan bagian luar membran adalah senyawa golongan lipopolisakarida. Lipopolisakarida memiliki peran pertahanan bagi bakteri gram negatif terhadap senyawa-senyawa asing, termasuk senyawa metabolit sekunder seperti antibakteri yang diinduksi (Pelczar & Chan, 2006; Pratiwi, 2008; Lestari *et al.*, 2020).



Gambar 4.7 Rata-rata diameter zona hambat fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong terhadap bakteri *E.coli* mengalami kenaikan dan penurunan yang berbeda tiap konsentrasi, (C) cumi-cumi, (S) sotong, (K) kontrol.
(Sumber: Dokumen Pribadi, 2021)

Nilai rata-rata diameter zona hambat menunjukkan jika bakteri *Escherichia coli* lebih sensitif terhadap fraksinat etil asetat tinta sotong dibandingkan dengan cumi-cumi, dapat diketahui dari lebih besarnya rata-rata diameter pada fraksinat etil asetat tinta sotong. Tiap bertambahnya presentase konsentrasi, nilai diameter yang didapatpun lebih besar, namun nilai rata-rata

diameter mengalami penurunan pada fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 50% seperti pada gambar 4.7. Penelitian ini dapat menunjukkan jika pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri juga dapat dipengaruhi oleh bakteri itu sendiri selain konsentrasi. Sunatmo (2009) berpendapat jika adanya variasi zona hambatan dapat terjadi karena kemampuan dan laju difusi senyawa antibakteri ke media yang cepat atau lambat, interaksi dari senyawa antibakteri dengan bakteri uji, jumlah bakteri uji yang diinokulasi, laju pertumbuhan bakteri uji, serta kerentanan bakteri uji tersebut terhadap senyawa antibakteri yang digunakan.

Data diameter yang didapat kemudian diolah dengan software uji statistik SPSS 20.0 *Kruskal Wallis*. Sebelum menggunakan Uji *Kruskal Wallis*, dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data yang didapat bersifat normal dan homogen (Walpole, 1995). Berdasarkan uji normalitas, nilai signifikan $p\text{ value} < 0,05$, sehingga Uji *One Way Anova* tidak dapat dilakukan sehingga uji yang dapat dilakukan apabila syarat untuk melakukan uji tidak terpenuhi adalah menggunakan uji alternatif non-parametrik *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* adalah salah satu uji non parametrik yang digunakan apabila data tidak terdistribusi normal (Walpole, 1995).

Hasil yang didapatkan dari uji *Kruskal Wallis* menunjukkan jika nilai signifikan adalah 0,001 ($< 0,05$) sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima; konsentrasi berpengaruh terhadap besar diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling *paper disk*. Nilai *mean rank* tertinggi adalah pada fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40% dengan nilai 25,00, sedangkan terendah

adalah pada fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi konsentrasi 20% dengan nilai 5,50. Terjadinya kenaikan atau penurunan diameter zona hambat fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi dan sotong terhadap bakteri *E.coli* dapat dilihat pada gambar 4.7.

Tabel 4.5. Hasil Uji *Mann Whitney* diameter zona hambat fraksinat etil asetat tinta cumi dan sotong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆	K ₇	K ₈	K ₉
K ₁	1	0.114*	0.034	0.034	0.034	0.025	0.025	0.034	0.025
K ₂	0.114*	1	0.099*	0.043	0.99*	0.034	0.034	0.043	0.034
K ₃	0.034	0.099*	1	0.034	0.361*	0.034	0.034	0.043	0.034
K ₄	0.034	0.043	0.034	1	0.043	0.114*	0.034	0.043	0.034
K ₅	0.034	0.099*	0.361*	0.043	1	0.034	0.034	0.043	0.034
K ₆	0.025	0.034	0.034	0.114*	0.034	1	0.025	0.034	0.025
K ₇	0.025	0.034	0.034	0.034	0.034	0.025	1	0.480*	0.025
K ₈	0.034	0.043	0.043	0.043	0.043	0.034	0.480*	1	0.025
K ₉	0.025	0.034	0.034	0.034	0.034	0.025	0.025	0.034	1

Keterangan: (*)Tidak ada perbedaan

K₁ : Fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 20%

K₂ : Fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 30%

K₃ : Fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 40%

K₄ : Fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 50%

K₅ : Fraksinat tinta sotong konsentrasi 20%

K₆ : Fraksinat tinta sotong konsentrasi 30%

K₇ : Fraksinat tinta sotong konsentrasi 40%

K₈ : Fraksinat tinta sotong konsentrasi 50%

K₉ : Kontrol positif (*Amoxicillin*)

Uji kemudian dilanjutkan ke Uji *Mann Whitney* untuk mengetahui adakah perbedaan yang signifikan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak. Beberapa perlakuan memiliki nilai signifikansi > 0.05 seperti perlakuan K₁ dan K₂ dengan nilai signifikansi 0.114, K₂ dan K₃ dengan nilai signifikansi 0.099, serta K₃ dan K₅ dengan nilai signifikansi 0.361. Nilai signifikansi yang > 0.05 menunjukkan jika tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan pada kedua

perlakuan tersebut. Sebaliknya, seperti pada perlakuan K₁ dan K₃ dengan nilai signifikansi 0.034 serta K₃ dan K₄ dengan nilai signifikansi 0.043 yang < 0.05, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil yang signifikan antara kedua perlakuan.

Tinta cumi-cumi dan sotong yang merupakan senyawa metabolit sekunder makhluk hidup memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli*. Allah SWT telah berfirman dalam QS. Al Luqman ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسًا أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi) tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala jenis binatang di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”

Melalui ayat tersebut, Syaikh Abdurrahman bin Nashir as Sa’di menafsirkan bahwa Allah menunjukkan kepada hambanya mengenai tanda-tanda kekuasaanNya yang juga dapat menjadi nikmat bagi manusia. Allah telah menghamparkan langit yang terpancang di atas kepala, serta gunung yang mempasak bumi. Allah juga telah menciptakan berbagai macam binatang dan menyebarkanluaskannya di muka bumi agar dapat bermanfaat bagi kemaslahatan umat manusia, Allah juga menurunkan air dari langit, serta menumbuhkan berbagai macam tanaman yang memiliki banyak kebaikan. Segala kekuasaan Allah tersebut tidaklah diciptakan dengan penuh kesia-siaan melainkan pasti memiliki manfaat bagi manusia. Allah juga telah berfirman dalam QS. Ali Imran ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ
رَبَّنَا مَا خَلَقْتَهُدَا بَطَلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya : “(Yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha Suci engkau, lindungilah kami dari azab neraka.”

Menurut Prof. Dr. Umar bin Abdullah al-Muqbil, ayat tersebut menunjukkan bahwa terdapat pembelajaran dalam setiap hal bahkan hal kecil sekalipun. Orang-orang beriman adalah orang-orang yang dianjurkan untuk merenungkannya (dengan berdzikir) sebelum mengerjakan sesuatu, untuk mematangkan pikirannya, agar dapat berbuat sesuatu yang bermanfaat karena dalam-dalam hal sederhana selalu terdapat manfaat. Selain itu, ayat ini juga menjadi dalil bahwasanya sebagai seorang hamba haruslah bertawasul kepada sang pencipta agar setiap hal dapat dimaknai sebagai karunia.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan, disimpulkan bahwa:

- a. Fraksinat etil astetat tinta sotong (*Sepia* sp.) dan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan konsentrasi berbeda memiliki pengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Fraksinat etil astetat tinta sotong (*Sepia* sp.) dan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan konsentrasi berbeda memiliki pengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
- c. Fraksinat etil asetat tinta sotong konsentrasi 40% memiliki efek daya hambat terbesar terhadap bakteri *S.aureus* dengan nilai rata-rata diameter sebesar 11.8 mm dan *E.coli* dengan nilai 8mm. Nilai rata-rata diameter terendah adalah oleh fraksinat tinta cumi-cumi konsentrasi 20% yaitu 4 mm pada bakteri *S.aureus* dan 2 mm pada *E.coli*. Fraksinat etil asetat tinta sotong (*Sepia* sp.) lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli* dibandingkan dengan fraksinat etil asetat tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.).

5.2 Saran

Untuk mengetahui konsentrasi penghambatan terbaik perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode-metode lainnya seperti *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) serta *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Selain itu untuk mengetahui keakuratan efektifitas daya hambat terhadap bakteri gram positif maupun negatif, perlu

dilakukan pengujian terhadap beberapa bakteri patogen lain sehingga hasil tidak subjektif pada satu jenis bakteri.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR PUSTAKA

- Agusandi, S. A., & Lestari, D.L. 2013. Pengaruh Penambahan Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.) Terhadap Kualitas Nutrisi dan Penerimaan Sensoris Mie Basah. *Fishtech*, 2(1):22-37.
- Affandi, R. I., Fadjar, M., & Ekawati, A. W. 2019. Active Compound on Squid (*Loligo* sp.) Ink Extract Powder as Immunostimulant Candidate against Shrimp Disease. *Journal of Life Science*, 6(3)150-162.
- Ahamed, A. R. G. B., Hossain, M. P., Antora, R. A., & Rabeta M. S. 2018. Physical and Functional Properties of Indian squid (*Loligo duvauceli*) and cuttlefish (*Sepia latimanus*) Ink Powder. *Food Research* 2(4):314-319.
- Akhita, D. P. 2019. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* (L.) Merrill) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.
- Anggraeni, Giri Indah. 2017. Potensi Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Akar Tanaman Obat Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Pendidikan Indonesia, Jakarta.
- Arifin, Ita Masita. 2015. Deteksi *Salmonella* sp. Pada Daging Sapi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern di Kota Makassar. Skripsi. Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Barus, D. O., Gelgel, K. T. P., & Suarjana, I. G. K. 2013. Uji Kepekaan Bakteri *Escherichia coli* Asal Ayam Pedaging Terhadap Antibiotik Doksisilin, Gentamisin, dan Tiamfenikol. *Indonesia Medicus Veterinus*, 2(5): 538-545.
- Brooks, G.F., Butel J.S., Butel J.S., Carroll K.C., & Mietzner, T.A. 2013. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25. EGC, Jakarta.
- Chen, S., Xue, C., Wang, J., Feng, H., Wang, Y., Ma, Q., & Wang, D. 2009. Adsorption of Pb(II) and Cd(II) by Squid *Omastrephes bartrani* Melanin. *Bioinorganic Chemistry and Application*, 1-7.
- Ciesla, W.p. & Guerrant, R.L. 2003. *Infectious Diarrhea*. Editor: Wilson, W.R., Drew, W.L., Henry, N.K. dalam; *Current Diagnosis dan Treatment in Infectious Disease*. Lange Medical Books, New York.
- D'Aoust, J. Y. 2000. *Salmonella*. Di dalam: Lund, B.M.T.C. Baird-Parker, G.W. Gould. (Eds.), *The Microbiological Safety and Quality of Food Volume I*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.

- Departemen Kesehatan RI. Kepmenkes RI No.1216/Menkes/SK/XI/2001 Tentang *Pedoman Pemberantasan Penyakit Diare*. Ditjen PP & PL, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Derby, C. D. 2014. Cephalopod Ink: Production, chemistry, functions, and applications. *Marine Drugs*, 12(5):2700-2730.
- Dewatisari, W. F. 2017. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansivera* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3):197-202.
- Djide, Natsir. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Farmasi*. Universitas Hasanuddin Press, Makassar.
- Fatmawati, Laily Rachmah. 2019. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comasus* [L.] Merr) dan Kulit Pisang (*Musa Parasidica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Skripsi*. Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Ampel, Surabaya.
- Febrianasari, Florensia. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sanata Dharma.
- Fitrial, Y. & Khotimah, I. K. 2017. Aktivitas Melanin dari Tinta Sotong dan Cumi-cumi. *JPHPI*, 20(2):266-274
- Fitrial, Y., & Iin, K. K. 2017. Aktivitas Antibakteri dari Melanin Tinta Sotong dan Cumi-cumi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(3):266-274.
- Ghuffran, M., & Kordi, A. 2010. *Budidaya Perairan*. Citra Aditya Bakti. Jakarta
- Glass, K., Ito, S., Willby, P. R., Sota, T., Nakamura, A., Bowers, C. R., Vinther, J., Suryendu, D., Summons, R., Briggs, D. E. G., Wakamatsu, K., & Simon, J. D. Direct Chemical Evidence Eumelanin Pigment from the Jurassic Period. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109(26):10218-10223.
- Guenther, Ernest. *Minyak Atsiri*, Jilid I. Diterjemahkan oleh Ketaren 103. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Hamka. 2015. *Tafsir Al Azhar*. Publishing House Sdn. Bhd, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Hanlon, R. T. & Messenger, J. B. 1996. *Cephalopod Behavior*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Press, Bandung.

- Hasrawati. 2017. Tingkat Cemaran Bakteri *Salmonella* sp. Pada Daging Ayam yang Di Jual di Pasar Tradisional. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Peternakan, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Haznawati, H. 2012. *Fraksinasi*. <http://darknessthe.blogspot.com>. Diakses pada 19 Mei 2020.
- Hendrayati, T. I. 2012. Perubahan Morfologi *Escherichia coli* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) Secara In vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Hernani, T., Marwati, C., Winarti. 2007. Pemilihan Pelarut pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galangal*) Secara Ekstraksi. *Jurnal Pasca Panen*, 4(1):1-8.
- Ihsanuddin, M. 2016. *Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang (Mangifera indica L.) Terhadap Escherichia coli secara In Vitro*. Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Irfanah. 2014. Aktivitas Sitotoksik Fraksi Nonpolar, Semipolar, dan Polar Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Sala (*Cyometra ramiflora* Linn.) Terhadap Sel Vero. *Naskah Publikasi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Islamy, R. Adharyan. 2019. Antibacterial Activity of Cuttlefish *Sepia* sp. (Cephalopoda) Ink Extract Against *Aeromonas hydrophila*, *Trad. Med, J.*, 24(3):184-188.
- Isyana, Fitrah. 2012. Stdui Tingkat Higiene dan Cemaran Bakteri *Salmonella* sp. Pada Pembuatan Dangke Susu Sapi di Kecamatan Cendana Kabupaten Enkreang. *Skripsi*. Program Studi Teknologi Hasil Ternak, Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran; Edisi XXII*, diterjemahkan oelh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika, Jakarta.
- Jereb, P & Roper, C. F. E. 2005. *Cephalopods of The World, FAO Spesies*. Catalogue for Fishery Purpose, 4(1):114-115
- Lei, M., Wang, J. F., Pang, L., Wang, M., Chen, S. G., & Xue, C. H. 2007^a. Effects of *Sepia* on the Metabolization of Blood Lipid & Antioxidant Ability in Hyperlipidemia Rats. *The Chinese Journal of Marine Drugs*, 3(1):30-33.

- Lei, M., Wang, J. F., Pang, L., Wang, M., Chen, S. G., & Xue, C. H. 2007^b. Study of Theradioprotective Effect of Cuttlefish Ink on Hemopoietric Injury. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(1):239-243.
- Lestari, A. L.D., Noverita, Atna P. 2020. Daya Hambat Propolis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pro-Life*, 7(3):237-250.
- Maidah, S. & Lestari, K.A.P. 2019. Aktivitas Antibakteri Amoksisilin Terhadap Bakteri Gram positif dan Gram Negatif. *J. Pijar MIPA*, 14(3):189-191.
- Masyithah, N. Z., & Herman, Laode Rijai. 2015. Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (*Lawsonia inermis*, L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(1):21-28.
- Mbonyirnyivuze, A., Nuzu. Z. Y., Diop., N. B., Mwangkingkuka, B., Simon, M., Dhlamini, S. M., Park, E., & Maaza, M. A. 2015. Morphological and Chemical Comp. Character of Comercial Sepia Melanin. *American Journal of Nangmaterialis*, 3(1):22-27.
- Mimura, T., Itoh, S., Tsujikawa, K., Nakajima, H., Satake, M., Kohama, Y., & Okabe, M. 1982. Studies on Biological Activities of Melanin from Marine Animals. V. Antiinflammatory Activity of Low-Molecular-Weight Melanoprotein from Squid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 35(3):1144-1150.
- Mukholik. 1995. Pengaruh Larutan Tinta Cumi-cumi dan Suhu Perebusan Terhadap Air Rebusan Cumi-cumi. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Murrukmiyadi, M. & Afiyati, A. Efek Pemberian Fraksi yang Mengadnung Alkaloid dari Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Varietas Merah Tunduk Terhadap Aktivitas Mukolitik Secara Invitro. *Trad. Med. J.*, 18(3):187-194.
- Nasution, F. M., Rina, S., Mardia, Ayu, A., Rido, R. H., Fadhila, A. I., Asfur, R. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Tinta Cumi (Squid ink) Terhadap Aterosklerosis. *Jurnal eBiomedik*, 5(2):1-6.
- Natewathana, A. 1997. Systematic of Cephalopods (Mollusca) on the Andaman Sea, Thailand. *Disertasi*. University of Aarhus.
- Nurhayati. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Cultivar Umbi Putih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan, UIN Alauddin, Makassar.

- Ornay, A. K. Prenanto, H., & Dewi, A. S.S. 2017. Zona Hambat Perumbuhan *Candida albicans* dan Daya Bunuh *Candida albicans* Ekstrak Daun Kemangi (*Ocinum sanctum*). *Jurnal Wiyata*, 4(1):78-83.
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., Zhao, Z. 2009. The Acid, Bile Tolerance and Antimikrobal Property of *Lactobacillus acidhopillus* NIT. *Journal Food Control*, 20: 598-602.
- Pelczar M.J. & Chan E.C.S. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press, Jakarta.
- Tairas, J., Juliatri, Bara, R., Tairas, J., & Wuisan, J. 2013. *Uji Efek Antibakteri Tinta Cumi-Cumi (Loligo sp.) Terhadap Bakteri Saluran Akar Gigi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Prasaja, D., Darwis, W., & Astusi, S. 2014. Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Kulit Batang dan Kuliat Buah Mangga (*Garnicia mangostana* L.) Sebagai Anti Bakteri *Shigella dysentriae*. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 12(2):83-91.
- Pratiwi, T. Sylvia. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Airlangga, Jakarta.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein D. A. 2008. *Microbiology*. W.C. Brown Publishers, Dubuque.
- Radji, Maksum. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC, Jakarta.
- Rahayu, D. A. 2012. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Pemilihan Pengobatan Tradisional di Wilayah Kerja Puskesmas Muara Siberut Kecamatan Siberut Selatan Kabupaten Kepulauan Sulawesi Mentawai. *Skripsi*. Universitas Andalas.
- Rahayu, M. P., Pangemana, D. H. C., & Mintjelungan, C. N. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biomedik*, 7(2): 76-81.
- Rahma, Elina. 2018. Uji Efektivitas Lendir *Anguilla bicolor* (McClelland, 1884) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universiats Lampung, Bandar Lampung.
- Rao, R., Kaur, S, P., & Nanda, S. 2011. Amoxicilin: a broad Spectrum Antibiotic. *International Journal Pharma Science*, 3(3):30-37.

- Romadanu, Rachmawati, S. H., & Lestari, S. D. 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Fishtech*, 3(1):1-7.
- Rudiana, E. & Delianis, P. 2004. Morfologi dan Anatomi Cumi-cumi *Loligo duvauceli* yang Memancarkan Cahaya. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 9(2):96-100.
- Sa'diyah, Muhimatus. 2012. Respon Ekstrak Etil Asetat Lumut Hati (*Dumortiera hirsute*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. *Skripsi Thesis*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Singgih, Santoso. 2008. *Paduan Lengkap Menguasai SPSS 16*. PT. Alex Media Komputindo, Jakarta.
- Soleha, Tri Umiana. 2015. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. *Jurnal Kesehatan Unila*, 5(9):119-124.
- Stark, Lisa. 2013. *Staphylococcus aureus Aspects of Phatogenesis and Molecular Epidemiology*. Department of Clinical Microbiology, Lincoping University.
- Sunatmo, T. I. 2009. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Labolatorium*. Ardy Agency, Jakarta.
- Susanti, N. 2012. Efektifitas Kompres Dingin dan Hangat pada Penatalaksanaan Demam. *Saintis*, 1(1): 55-64.
- Todar, Kenneth. 2005. *Textbook of Bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, Wisconsin.
- Trisia, A., Philliria, R., & Angeline N. T. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2):136-143.
- Ugboko, H. & De, N. 2014. Review Article Mechanism of Antibiotic Resistance in *Salmonella typhi*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(12):46-76.
- Vairappan, C. S. 2003. Potent Antibacterial Activity of Halogenated Metabolites from Malaysian Red Algae, *Laurencia majucula*. *Journal Biomolecular Engineering*, 20(4-6):255.
- Vasantharaja, D., Ravitchandirane, V., & Anandan, V. 2014. Anti-microbial activity and spectrochemical investigation of ink extracts of *Sepiella inermis* (Van Hasselt 1835). *Notulae Scientia Biologicae*, 6(3):273-275.

- Walpole, R. E. 1995. *Pegantar Statistika Edisi 3*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wang, Q., Gossweiler, G. R., Stephen, L. C., & Xuanhe, Z. 2014. Cephalopod inspired Design of Electro-mechano-chemically Responsive Elastomers for On-demand Fluorescent Patterning. *Nature Communications*, 5:4899.
- Yuswanada, N. P. 2015. Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp. Pada Makanan Jajanan di Masjid Fathullah Ciputat Tahun 2015. *Skripsi*. Program STudi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Yuwono. 2010. Pandemi Resistensi Antimikroba: Belajar dari MRSA. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 1(42):2837-2850.
- Zeniusa, Poppi. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol The Hijau Terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Zhang, J. Yang, P. L., & Gray, N. S. Targeting Cancer with Small Molecule Kinase Inhibitors. *Nature Reviews Cancer*, 9(1):28-39.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A