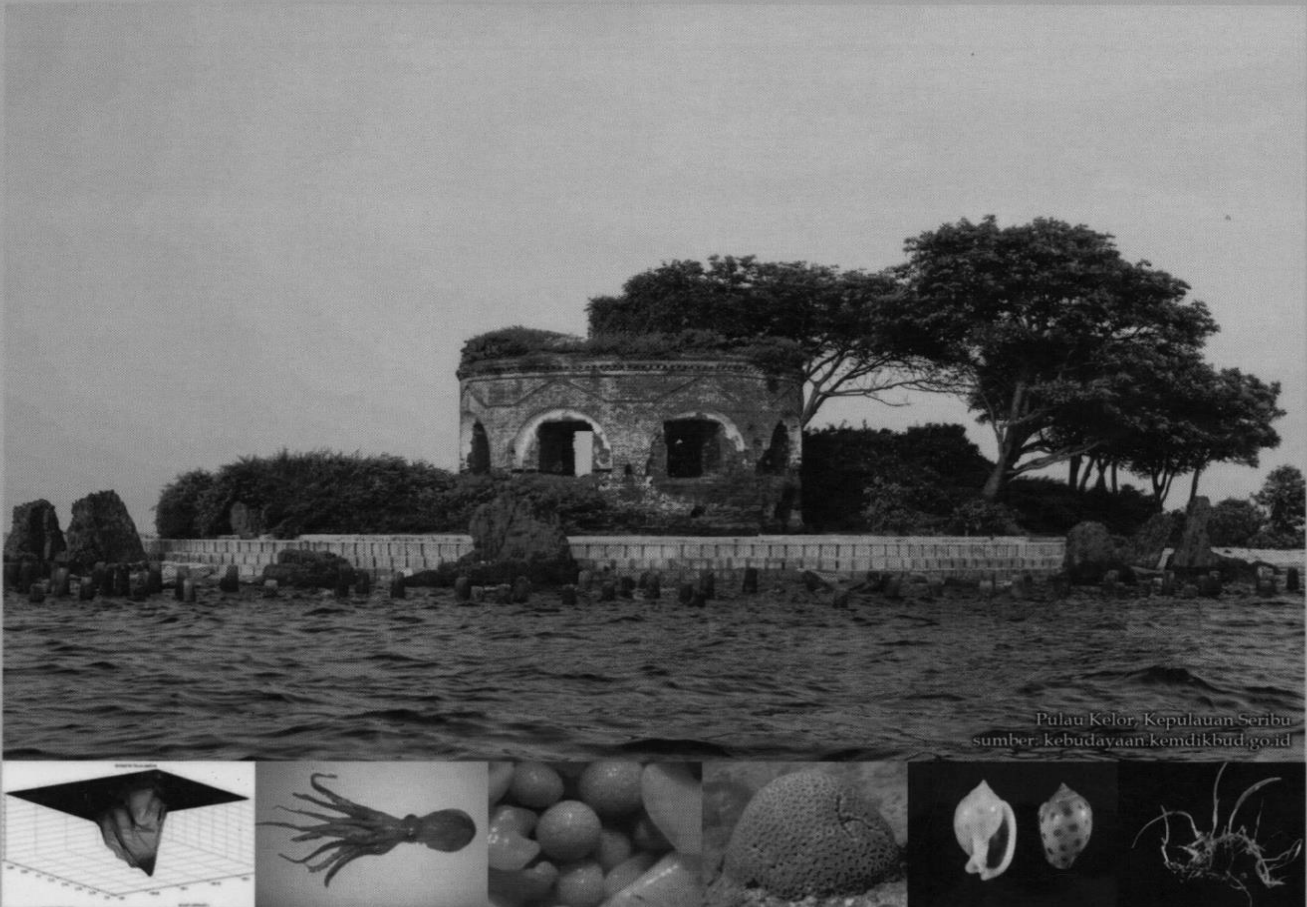




ISBN: 978-602-18153-2-8

Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Tahunan X ISOI 2013

Gedung II BPPT, Jakarta
11 - 12 November 2013



Pulau Kelor, Kepulauan Seribu
sumber: kebudayaan.kemdikbud.go.id

Ketua Tim Editor:
Agus S. Atmadipoera

Ikatan Sarjana Oseanologi Indonesia
Jakarta, April 2014

Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Tahunan X ISOI 2012

**Gedung II BPPT Jakarta
11 — 12 November 2013**

**Ketua Tim Editor:
Agus S. Atmadipoera**

**Tim Editor:
Indra Jaya, Suhartati M. Natsir, Nani Hendiarti, Bambang Herunadi, Mufti P. Patria,
Rina Zuraida, Kresna T. Dewi, Widodo Pranowo, Tri Prartono, Wahyu Pandoe,
Taslim Arifn, Udrekh, Fadli Syamsudin, Anastasia R. Tisiana D.K., M. Ilyas,
Agus Sudaryanto, Luky Adrianto**

**2014
Diterbitkan oleh:
Ikatan Sarjana Oseanologi Indonesia (ISOI)**

**Sekretariat
dia. Pusat Penelitian Oseanografi LIPI
J1. Pasir Putih I No.1, Ancol Timur
Jakarta 14430
sekretariatgisoi.or.id
www.isoi.or.id
publikasi.isoi.or.id**

**Atmadipoera *et al.* (Editor). 2014. Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Tahunan X
ISOI 2013, Jakarta, 11 - 12 November 2013, 409 h.**

**Foto kulit muka : Pulau Onrust, Kepulauan Seribu mangrove; 3D *bathymetri*;
cephalopoda (*Octopus* sp.); fosil foraminifera dan batu gamping;
terumbu karang (*Favia* sp.); gastropoda (*Phalium bisulcatum*); dan
Keterangan foto lamun (*Halodule uninervis*)
Tata letak : Foto memperlihatkan sebagian dan obyek dan hasil penelitian
yang diseminarkan
: M. Subkhan
ISBN : 978-602-18153-2-8**

KARAKTERISASI TINTA CUMI-CUMI (*Sepiotheuthis lessoniana*) DAN TOKSISITASNYA

CHARACTERIZATION OF SQUID INK (*Sepiotheuthis lessoniana*) AND TOXICITY

Delianis Pringgenies, Agung Setyo Sasongko dan Sri Sedjati

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro Semarang
[Email: pringgenies@yahoo.com](mailto:pringgenies@yahoo.com)

Abstrak

Bioprospek dari tinta cumi-cumi belum banyak dikenal, namun tinta cumi memiliki aktifitas farmakologis, yakni metabolit sekunder dengan kinerja sistemnya melalui enzim yang berpotensi sebagai anti kanker. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kandungan tinta cumi dengan metode fitokimia dan toksisitas tinta cumi-cumi jenis *Sepiotheuthis lessoniana* dengan metode LC50 terhadap Nauplius *Artemia salina*. Penelitian dengan menggunakan 6 perlakuan masing-masing konsentrasi tinta cumi 0,047; 0,212; 0,977; 4,502; 20,745 dan 95,591 ppm. Kemudian nilai LC50 dihitung dengan menggunakan metode probit. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa tinta cumi-cumi mengandung senyawa triterpenoid, selanjutnya bahwa tinta cumi mampu membunuh *A. Salina* pada uji toksisitas utama yakni konsentrasi 95,591 ppm dengan persentase kematiannya 100%. Pada kematian 50% ditemukan 0,558, nilai tersebut kemudian di antilogkan dan diperoleh nilai 3,614. Artinya bahwa kematian hewan uji mencapai 50% saat konsentrasi tinta cumi cumi mencapai 3,614 ppm atau berada pada konsentrasi diantara 0,977 — 4,052.

Kata kunci: *Sepiotheuthis lessoniana*, tinta cumi-cumi, toksisitas, *brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Abstract

Bioprospects of squid ink is not yet widely known, but squid ink have pharmacological activity, namely secondary metabolites with system performance through the enzyme as a potential anti-cancer. The research objective was to determine the content of squid ink with phytochemical and toxicity methods squid ink types *Sepiotheuthis lessoniana* with LC50 method to Nauplius *Anemia salina*. Study using 6 treatments each squid ink concentration 0.047 ; 0.212 ; 0.977 ; 4.502 ; 20.745 and 95.591 ppm. Then the LC50 value was determined using the probit. The results showed that squid ink contains a triterpenoid compound, then that ink squid is able to kill *A. salina* on the main toxicity test concentration of 95.591 ppm with 100 % percentage of his death. At the 50 % found 0.558 deaths, the value then in logarithms and obtained 3.614 value. It means that the death of test animals reached 50 % saat konsentrasi squid ink reaches 3.614 ppm or were at concentrations between 0.977 to 4.052.

Key word: *Sepiotheuthis lessoniana*, squid ink, toxicity, *brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

I. PENDAHULUAN

Beberapa organisme laut merupakan sumber alam yang potensial sebagai bahan obat. Toksin yang dihasilkan biota laut memiliki senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Beberapa peneliti mengemukakan senyawa metabolit sekunder biota laut sebagai antimikroba, antivirus, antiinflamasi dan anti kanker Suryati *et al.*, (1996) dalam (Alam *et al.*, 2003). Biota laut mengandung senyawa hasil kimia yang digunakan untuk mempertahankan eksistensinya, senyawa tersebut dikenal sebagai metabolit sekunder. Potensi metabolit sekunder merupakan sumber kimia yang dapat di eksplorasi dan dijadikan rujukan untuk pemanfaatan yang berkelanjutan (Eru, 2003).

Penelitian dilakukan untuk mencari senyawa antikanker bare dengan harapan mempunyai sifat yang lebih baik. Spons merupakan salah satu sumber senyawa-

senyawa baru dari biota laut yang mempunyai keanekaragaman hayati tinggi (Astuti *et al*, 2005). Penelitian yang telah ada terhadap sponge telah menghasilkan senyawa-senyawa baru dengan struktur unik dan memiliki aktifitas farmakologis, yaitu aktifitas antikanker. Cairan tinta cumi-cumi ini berwarna gelap yang mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam. Melanin alami ini adalah melanoprotein yang mengandung 10-15 persen protein. Melanin ini mengikat protein melalui asam amino yang mengandung sulfur, misalnya sistein yang bisa mengikat sel darah putih dan dan berguna untuk mencegah antikanker (Hajime, 1997).

Cairan tinta cumi-cumi ini berwarna gelap yang mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam. Melanin alami ini adalah melanoprotein yang mengandung 10-15 persen protein. Melanin ini mengikat protein melalui asam amino yang mengandung sulfur, misalnya sistein yang bisa mengikat sel darah putih dan dan berguna untuk mencegah antikanker (Hajime, 1997).

Penelitian antikanker dari tinta cumi-cumi masih relatif sedikit oleh karena kurangnya informasi tentang pentingnya tinta cumi-cumi sebagai antikanker. Pada kelas Cephalopoda diketahui memiliki potensi bioaktif terhadap berbagai mikroorganisme patogen (Mochizuki, 1979). Dilaporkan bahwa tinta dari *Sepioteuthis lessonium* menunjukkan efek antiseptik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan tinta dari *Men argentimus* dilaporkan memiliki potensi sebagai antitumor (Takaya *et al.*, 1994). Di Jepang tinta cumi-cumi banyak dicampurkan dalam setiap masakan karena memberikan citarasa yang khas, dalam kaitanya secara fisiologis tinta cumi-cumi dapat melawan sel tumor dan sel kanker (Naraoka *et al*, 2000). Tinta cumi-cumi memiliki cakupan yang luas dan mempunyai peranan biologis yaitu menambah daya tahan tubuh yang bisa menghambat sel kanker (Xie, 2002 dalam Zhong *et al.*, 2009).

Untuk membuktikan apakah tinta cumi-cumi *Sepioteuthis lessoniana* mempunyai toksisitas lebih tinggi, maka digunakan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT). Keistimewaan metode ini adalah mudah, murah dan cepat dalam perlakuannya dibandingkan menggunakan metode lain. Berdasarkan hal tersebut diatas, maka tujuan penelitian adalah untuk menguji senyawa fitokimia tinta cumi-cumi yang menyebabkan kematian nauplius *Anemia salina* pada uji toksisitas dan menentukan nilai LC50-24 jam tinta cumi-cumi terhadap nauplius *Anemia salina*.

II. METODE

Materi penelitian tinta cumi-cumi *Sepioteuthis lessoniana* berasal dari perairan Sendang Sekucing. Setelah proses pencucian, kemudian cumi-cumi dibelah memanjang untuk mendapatkan tinta yang terdapat pada sepio melanin setelah itu dikumpulkan pada botol sampel kemudian letakkan pada *cool box* yang sudah berisi es batu. *Sepioteuthis lessoniana* dengan berat basah adalah 3 kg setelah di bedah untuk mendapatkan tintanya diperoleh tinta sebanyak 350 ml.

2.1. *Artemia salina*

Artemia salina, dan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fase nauplius tahap instar II yang sudah memiliki saluran pencernaan lengkap dan metabolisme ping sempurna (Mudjiman, 1988) dan nauplius tahap instar II mempunyai korelasi pertumbuhan dengan sel kanker (Colegate *et al.*, 2008). Jumlah nauplius *Anemia .slim* yang digunakan sebagai biota uji adalah 10 ekor tiap wadah (McLaughin *et al.*, 1998). *Anemia salina* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air l'ayau Jepara (BBBAP).

Pada penelitian ini dilakukan percobaan untuk menentukan LC_{50} tinta cumicumi terhadap *Artemia salina* menggunakan metode *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.2. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel tinta cumi-cumi *Sepiotheuthis lessoniana* dari perairan Sendang Sekucing di tentukan secara *purposive* kemudian di bersihkan dengan air tawar. Selanjutnya cumi-cumi di potong melintang untuk mengambil tinta cumcumi yang berada di sepio melanin atau kantong tinta dimasukkan tinta cumi-cumi ke dalam botol sampel yang tersedia. Selanjutnya botol sampel yang sudah terisi tinta cumi-cumi di masukkan ke dalam *Cool box* yang sudah terisi balok es.

2.3. Penetasan Telur *Artemia salina*

Telur artemia direndam di dalam air tawar selama 15-30 menit dengan tujuan menghilangkan bau kaleng dan membersihkan kotoran yang menempel, selanjutnya ditiriskan untuk memisahkan antara telur dan air tawar kemudian direndam dalam 10 liter air Taut. Suhu penetasan adalah $\pm 25-30$ °C dan pH $\pm 6-7$ (Mujiman, 1992). Telur akan menetas setelah 18-24 jam dan larvanya disebut nauplii. Nauplii siap untuk uji BSLT setelah larva ini berumur 48 jam.

2.4. Preparasi Botol Vial

Disiapkan botol vial ukuran 12 ml sebanyak 24 botol terbuat dari kaca. sebelum digunakan di sterilisasi terlebih dahulu. Bagian atas botol vial dibiarkan tetap terbuka agar sirkulasi oksigen tetap ada.

2.5. Uji fitokimia

1 Identifikasi Alkaloid

Tinta cumi-cumi sebanyak 5 ml ditambah ammonia dengan konsentrasi 25 % ditambah 20 ml klorofrom. Untuk pemeriksaan alkaloid, 10 ml larutan organik di Ekstraksi sebanyak 2 kali dengan HCL (1:10). Sebanyak 5 ml larutan ini masing-masing dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah bata setelah ditambah pereaksi drage ndrof dan endapan putih setelah ditambah pereaksi meyer (Herbert, 1995).

2. Saponin

Tinta cumi-cumi dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik jika terbentuk busa setinggi 1- 10 cm yang stabil sekitar 10 menit dan tidak hilang pada penambahan di tetes HCL 2 N menunjukkan adanya saponin (Herbert,1995).

3. Flavonoid

Sebanyak 5 ml filtrat dari tinta cumi- cumi ditambah 1 ml HCL pekat dan 2 ml amil alkohol, di kocok kuat dan dibiarkan memisah, adanya flavonoid ditunjukan jika terbentuk warna merah, kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Herbert,1995).

4. Fenolik

Tinta cumi-cumi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah aquadest kemudian dididihkan. filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi lain kemudian ditambah larutan $FeCl_3$ 1% sebanyak 2 ml. jika terjadi perubakahan warna menunjukkan adanya gugus hidroksil yang tersubstitusi pada gugus benzena atau

suatu senyawa fenolik (Herbert,1995).

5. Triterpenoidsteroid

Tinta cumi-cumi ditambah setetes asam asetat anhidrat dengan setetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau ungu menandakan adanya steroid sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan triterpenoid (Herbert,1995).

2.6. Uji Toksisitas Tinta Cumi—cumi dengan metode BSLT

Uji pendahuluan dimulai dengan pembuatan larutan stok tinta cumi dengan konsentrasi 2000 ppm. Pembuatan stock 2000 ppm (2000 mg/l) dilakukan dengan cara mencampurkan tinta cumi sebanyak 0,2 gram ke dalam 99,8 ml air laut sehingga didapatkan konsentrasi tinta cumi 2000 ppm. larutan stok, kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi tinta cumi untuk menentukan batas atas dan bawah yaitu 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, 0,1 ppm, dan 0,01 ppm.

Setelah hasil didapatkan kemudian mencari untuk uji toksisitas utama diketahui konsentrasinya adalah 0,047 ppm, 0,212 ppm, 0,977 ppm, 4,502 ppm, 20,745 ppm, dan 95,591 ppm.

Penelitian dilakukan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan pemberian perlakuan konsentrasi 0,01 ppm 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm dengan 1 kontrol dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Parameter yang digunakan adalah jumlah artemia yang mati 50 % dari total larva uji, pengamatan uji toksisitas dilakukan selama 24 jam. Kemudian di hitung nilai LC50 dengan metode probit.

2.7. Analisis Hasil

Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian (Nurhayati *et al.*, 2006).

$$\% \text{ larva} = (\text{Jumlah larva yang matiaumlah larva uji}) \times 100 \%$$

Rumus menghitung nilai LC 50-24 jam

dimana:

$$b = [\text{EXY} - 1/n (> X) (zy)] / [ZX^2 - 1/n (EX)^2]$$

$$a = 1/n (ZY - b ZX)$$

$$m = 5 - a$$

$$b$$

Y = Nilai Probit Mortalitas Hewan Uji

X = Logaritma Hewan Uji

a = Konstanta

b = Slope

m — Nilai X pada Y = 5 (Nilai probit 50% mortalitas Hewan Uji)

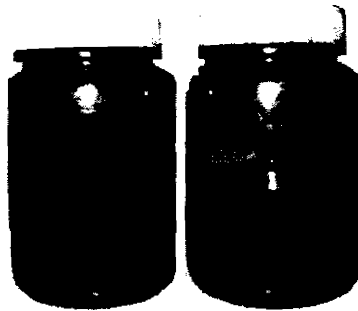
Untuk mengetahui kematian larva *Anemia salina*, kemudian dicari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan garis :

$$Y = a + bX$$

- Nilai LC50-24 jam diperoleh dan nilai antilog m.
- Nilai m merupakan nilai X pada saat kematian sebesar 50%, sehingga fungsi liniernya adalah: $5 = a + bX$.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN 3.1. Hasil 3.1.1. Tinta cumi-cumi *Sepioteuthis lessoniana*

Tinta cumi-cumi jenis *Sepioteuthis lessoniana* pada jenis spesies mempunyai tinta jauh lebih banyak dari jenis cumi-cumi yang lain dalam genus *Sepioteuthis* dan tinta cumi-cuminya lebih pekat. *Sepioteuthis lessoniana* dengsk berat basah yaitu 3 kg setelah di bedah didapatkan tinta sebanyak 350 ml. Tinta cumicumi yang digunakan dapat dilihat sebagaimana Gambar 1.



Gambar 1. Tinta Cumi-cumi *Sepioteuthis lessonian*

3.1.2. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Tingkat kematian *Artemia sal ina* ditentukan dari beberapa konsentrasi yang terdapat pada masing-masing botol vial. Hasil pengamatan untuk konsentrasi 0,047 nilai probitnya 0, konsentrasi 0,212 nilai probitnya 3,72, konsentrasi 0,977 nilai probitnya 4,269, konsentrasi 4,502 nilai probitnya 5,168, konsentrasi 20,745 nilai probitnya 5,84 dan konsentrasi 95,591 nilai probitnya 8,09.

3.2.3. Uji Toksisitas Pendahuluan

Uji toksisitas pendahuluan bertujuan untuk menentukan batas atas dan batas bawah sebelum melakukan perhitungan uji toksisitas utama seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Presentase kematian larva *Artemia sal ina* yang mati pada tinta cumi-cumi

Ulangan	Konsentrasi Tinta Cumi-cumi (ppm)						
	Kontrol (0)	0,01	0,1	1	10	100	1000
1	0	0	2	5	6	10	10
2	0	0	1	2	7	10	10
3	0	□	2	1	5	10	10
Jumlah	0	0	5	8	18	30	30
Rata-rata	0	0	1,6	2,6	6	10	10
%!, Mort	0	0	16,7	26,7	60	100	100

Ulangan	Konsentrasi Tinta Cumi-cumi (ppm)					
	0,047	0,212	0,977	4,502	20,745	95,591
1	0	1	3	5	6	10
2	0	1	2	6	9	10
3	0	1	2	6	9	10
Jumlah	0	3	7	17	24	30
Rata-rata	0	1	2,3	5,6	8	10

Hasil Penelitian memperlihatkan bahwa persentase kematian larva *Artemia salina* sebesar 0-100 %. Pada konsentrasi 0 ppm persentase kematiannya sebesar 0 %, 0,01 ppm persentase kematiannya 0 %, 0,1 ppm persentase kematiannya sebesar 16,7 %, 1 ppm persentase kematiannya sebesar 26,7 %, 10 ppm persentase kematiannya sebesar 60 %, 100 ppm persentase kematiannya sebesar 100 %, 1000 ppm persentase kematiannya sebesar 100 %. Dilakukannya uji toksisitas pendahuluan ini seperti pada Tabel 3. mempunyai tujuan untuk mencari batas bawah dan batas atas di mana diperoleh batas bawahnya yaitu 0 dan batas atasnya 100. Setelah diperoleh batas bawah dan batas atasnya kemudian mencari perlakuan konsentrasi yang digunakan untuk uji utama.

Hasil Penelitian memperlihatkan bahwa persentase kematian larva *Artemia salina* pada uji toksisitas utama menunjukkan persentase kematian larva *Artemia salina* sebesar 0-100 %. Pada Tabel 4 konsentrasi 0,047 ppm persentase kematiannya sebesar 0 %, konsentrasi 0,212 ppm persentase kematiannya sebesar 10 %, konsentrasi 0,977 ppm persentase kematiannya sebesar 23,37 %, 4,502 ppm persentase kematiannya sebesar 56,67 %, konsentrasi 20,747 ppm persentase sekitar 80 % dan konsentrasi 95,591 ppm persentase kematiannya sebesar 100 %. Dilakukannya uji toksisitas utama dengan tujuan untuk memperoleh persentase kematiannya. Setelah diperoleh tingkat kematiannya pada tiap masing-masing konsentrasi, kemudian dilakukan analisis probit atau mencari tingkat kematian.

Dari Hasil perhitungan uji toksisitas utama kemudian dilakukan analisis probit atau mencari tingkat kematian seperti dalam Tabel 3.

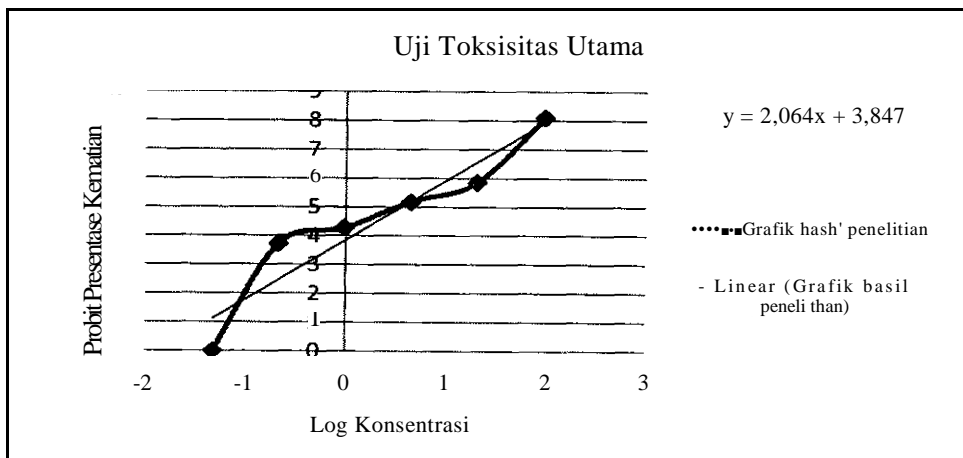
Tabel 3. Analisis Probit LC₅₀ -24 jam Tinta Cumi-cumi Terhadap *Artemia salina* pada Uji Toksisitas Utama

d (Kons. Uji)	n (Jml. hwn Uji)	r (Mort. hwn Uji)	P (% Mort.)	X (LogKons)	X ²	Y (Probit % Mort)	XY	LC ₅₀ 24 Jam (PPrn)
0,047	30	0	0	-1,32	1,742	0	0	3,614
0,212	30	3	10,00	-0,67	0,448	3,72	-2,492	
0,977	30	7	23,37	-0,01	0,0001	4,269	-0,042	
4,502	30	17	56,67	0,65	0,422	5,168	3,359	
20,745	30	24	80,00	1,31	1,716	5,84	7,650	
95,591	30	30	100,00	1,98	3,920	8,09	16,018	
			E	1,94	8,250	27,087	24,493	

Perlakuan uji toksisitas utama *Anemia salina* terhadap konsentrasi tinta cumi-cumi memperlihatkan persentase mortalitas *Artemia salina* dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi, dari konsentrasi uji 0,047 sampai 95,591 dengan hewan uji 10 ekor artemia tiap botol vial. Diperoleh nilai LC_{50-24 jam} sebesar 3,614 ppm.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa hubungan antara persentase mortalitas artemia dengan log konsentrasi tinta cumi-cumi seperti dalam Gambar.2. Pada Gambar 2, persamaan regresi Tinier dari $Y = 2,064 + 3,847$ nilai LC₅₀ dapat ditentukan dengan Y disubstitusikan dengan nilai 5 atau probit dari 50 % dengan X dimana nilai X ini saat kematiannya sebesar 50% yaitu 0,558 yang diperoleh dari LC₅₀. 24jam dari nilai m yang di antilog-kan. Kemudian nilai X tersebut di antilog-kan diperoleh nilai 3,614. Ini berarti kematian hewan uji mencapai 50% pada saat konsentrasinya mencapai 3,614 ppm atau berada pada konsentrasi diantara 0,977-4,052.

Gambar 2. Grafik hubungan antara persentase kematian artemia dengan probit



3.2. Pembahasan

Dari **grafik** hubungan antara persentase kematian artemia dengan probit bahwa semakin besar nilai konsentrasi tinta cumi-cumi, mortalitas pada artemia juga akan semakin besar. Hal ini sesuai dengan Harborne (1994), yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasinya maka sifat toksiknya akan semakin tinggi.

3.2.1. Uji Triterpenoid

Toksisitas merupakan indikator yang sangat berguna dalam kaitannya dengan aktifitas biologi. Toksisitas memberikan arahan yang penting terhadap adanya senyawa aktif yaitu triterpenoid secara farmakologi dan senyawa antitumor /antikanker. Serangkaian zat aktif fisiologi dari binatang laut, khususnya dari invertebrata (binatang yang tak memiliki sistem pertahanan tubuh secara fisik), yang telah diuji meliputi: antimikroba, antiviral, antitumor, antihipertensi, stimulan pertumbuhan, zat neurotoksik, dan lain-lain Halevy (1990) *dalam* (Munifah *et al.*, 2007).

Triterpenoid mempunyai aktifitas biologis terhadap virus *epstein-barr virus (EBV)* dimana menyerang manusia dan virus ini sangat mematikan yang menyerang sistem kekebalan tubuh dan bisa menyebabkan komplikasi penyakit lain misalnya penyakit lupus, antiAIDS, antiinflammatory, antimikroba, antitumor dan antikanker (Singh *et al.*, 1999). Park *et al.*, (2001) mengemukakan bahwa triterpenoid mempunyai aktifitas biologis terhadap kanker. Sebagai tambahan, triterpenoid secara alami dan biologis mempunyai aktifitas farmakologis seperti antitumor/antikanker, antiperadangan (Gauthier *et al.*, 2010).

Senyawa triterpenoid seperti a-hederin berasosiasi dengan sel tumor (Bang, 2007), pada aplikasi industri dehydrogenase menghasilkan tonscale pada tingkat produksi 1-tertiary leucine dimana digunakan untuk mencari obat antitumor dan HIV. Dehydrogenase ini sangat banyak terdapat pada enzim lipase karena atom-atom yang ada di enzim tersebut dapat memecah sel tumor atau sel kanker (Tao *et al.*, 2009)..

Terjadinya *apoptosis* yaitu kematian sel melalui mekanisme genetik (kerusakan fragmentasi kromosom dan DNA) melalui proses sitotoksik ini di picu karena adanya sel yang memiliki gen cacat. Timbulnya kecacatan gen ini, maka sel tersebut akan mengekspresikan senyawa triterpenoid. Triterpenoid ini dapat bersifat imunogenik, sehingga memicu terjadinya proses pembentukan antibodi. Antibodi yang terbentuk dapat menempel di permukaan sel tertentu, hal ini terjadi karena ada beberapa sel yang pada membranya memiliki reseptor dari antibodi antara lain sel *killer*. Selanjutnya, antibodi yang berada di permukaan sel *killer* akan mengikat triterpenoid yang di permukaan sel yang memiliki gen cacat. Adanya ikatan sel *killer* tersebut akan melepaskan suatu enzim yang disebut sebagai sitotoksin. Sitotoksin yang dilepas oleh sel *killer* tersebut mengandung perforin dan *granzyme*. Perforin dapat memporosasi membran sel yang memiliki gen cacat, kemudian *granzyme* dimasukkan dalam sel tersebut. *Granzyme* yang berada dalam sitosolik dari sel yang memiliki gen cacat akan mengaktifkan DNA-ase. DNA-ase inilah yang merusak DNA yang berada di dalam inti, sehingga sel mengalami kematian (*apoptosis*) (Sudiana, 2008).

Triterpenoid ini merupakan senyawa yang sangat toksik dan secara alami sebagai sumber obat antikanker dimana kinerja sistemnya melalui enzim lipase yang berada di pankreas (Gauthier *et al.*, 2010).

Menurut Naraoka *et al.*, (2000) tinta cumi—cumi bisa digunakan sebagai antitumor/antikanker dengan metode *fibrosarcoma* atau tumor ialah tumor ganas berasal dari jaringan ikat berserat dan ditandai dengan belum menghasilkan proliferasi fibroblast atau dibedakan anaplastik sel gelondong dan menyerang tulang panjang atau flat seperti femur, tibia, dan mandibula, Biasanya menyerang pada pria usia 30-40. Metode *fibrosarcoma* yaitu dengan cara membedah pada tumornya secara langsung yang berasal dari jaringan fibrosa tulang, tibia, dan mandible. Hal ini juga melibatkan periosteum dan otot atasnya., tinta cumi—cumi mempunyai peptidoglycan lebih tinggi untuk digunakan sebagai antikanker, karbohidrat yang terdapat pada peptidoglycan termasuk *mucopolysaccharia'e* yang dinamakan *Illexin* zat inilah yang diduga sebagai antikanker.

3.2.2. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Tinta Cumi-cumi *Sepioteuthis lessoniana*

Penelitian ini menggunakan tinta cumi-cumi *Sepioteuthis lessoniana*. Sampel tersebut diambil dari cumi-cumi setelah ditangkap kemudian di belah lalu langsung diambil tintanya menggunakan pipet atau dengan jarum suntik setelah itu dimasukkan dalam botol sampel, kemudian simpan dalam *cool box* yang telah berisi es batu, grielah sampai di laboratorium botol sampel dimasukkan dalam *frezer*. Tujuan dari bekuan ini ialah agar menjaga kandungan senyawa dalam tinta cumi-cumi tidak dan bisa digunakan dalam waktu yang cukup lama.

Pada botol vial dengan konsentrasi 0,212 ppm mulai menunjukkan mortalitas waktu 16 jam. *Artemia rnati* disebabkan oleh sifat toksik dari tinta cumi-cumi *teuthis lessoniana* yang sifatnya tidak langsung mematikan akan tetapi bertahap dalam mematikan artemia tersebut Meyer (1982) dan Anderson (1991) dalam Nurhayati (2006) melaporkan bahwa suatu bahan uji menunjukkan aktifitas racun dalam BSLT jika bahan uji dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Berdasarkan dari pernyataan di atas, maka tinta cumi-cumi mempunyai potensi aktifitas racun karena nilai LCnnya sebesar 3,614 dimana nilai tersebut sangat mempunyai potensi sebagai *marine natural product* yang alami (Colegate *et al.*, 2008).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Uji fitokimia menunjukkan bahwa tinta cumi-cumi mengandung senyawa kimia golongan triterpenoid.
2. Pemberian tinta cumi-cumi *Sepiotheuthis lessoniana* dengan konsentrasi yang berbeda dapat menyebabkan kematian terhadap *Artemia salina* pada uji toksisitas utama dengan nilai LC_{50_24 jam} adalah 3,614 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, G., D. Sari., dan P. Astuti. 2003. Fraksinasi dan Uji Toksisitas Ekstrak aseton Spons *Petrosia* sp Asal Taman Laut Bunaken terhadap larva *Artemia salina* Leach, *Majalah Obat Tradisional*, Vol. 8., No.25, 20-24 him.
- Astuti P, G Alam., H.S.Mae., S. Dinar., W.Subagus. 2005. Uji sitotoksik senyawa alkaloid dari spons *Petrosia* sp: Potensial pengembangan sebagai antikanker_ *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 (1).
- Colegate M.S and J.R. Molyneux. 2008. *Bioactive natural products Detection, Isolation, and Structural Determination second edition*. CRC Press. Boca Raton. 50-54 pp.
- Em, A.W.2003.Isolasi dan Eludasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder dari Mikroba Laut *Apergillus Versicolor* (Vuill) Tiraboschi yang mempunyai aktivitas toksik terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Tesis magister Sains Ilmu Kimia.MIPA-U1. Depok*, 104 hlm.
- Gauthier,C., J.Legault., M.Piochon., and A. Pichette. 2010. Advances in the synthesis and pharmacological activity of lupine type triterpenoid saponins. *Phytochei Rev.* 79-81pp.
- Hajime M., T. Yoshiaki., U. Hidenitsu., N. Tetsushi, O. Bun-ichi., N. Funiaki., L Kunio., Jin-ichi, S. 1997. Antitumor Peptidoglycan with New Carbohydrate Structure from Squid Ink. In Ohigashi H, Osawa T, Terao J, Watanabe 5, Yoshikawa T (Eds.). *Food Factors for Cancer Prevention*. Tokyo: *SpringerVerlag Tokyo*. p331-6.
- Harborne, J. B. 1994. *The Flavonoids*. Chapman and Hall. London. 34-35 pp.
- Mochizuki, A.1979. An Antiseptic Effect of Cuttlefish Ink. *Science fisheries. Jape* 45.1401-1403 pp.
- Mudjiman, A. 1988. *Udang Renik Air Asin (Artemia Salina)*. Bharatara Karya Aksara, Jakarta. 45-47 him.

- Munifah, I., T. Wikanta., dan M. Nursid. Sponge : *Biota Laut Penghasil Senyawa Bioaktif yang Potensial*. Laboratorium Bioteknologi Kelautan Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. 10-14 him.
- Meyer, B. N., N.R. Ferrigni., J.E.Putman., L.B. Jacobsen., D.E. Nicols., and., J. L. McLaughlin. 1982. *Brine Shrimp* : A Comvenient general Bioassay For Active Plant Constituents. *Plant Medica*. 89-91 pp.
- Naraoka, T., Hun-Sik, Chung., Jin-ichi, Sasaki., and H. Matsue. 2000. Tyrosinase Activity in Antitumor Compounds of Squid Ink. *Food Sci. Techno. Res.*; 6 (3), 171-175pp.
- Nurhayati,D.P.A., N. Abdulgani., dan R. Febrianto. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* terhadap *Artemia Salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Makalah Seminar Nasional Kimia, Oktober 2006: 4146 hlm, Vol. 2 No. 1. Akta Kimindo*.
- Park, H.J., S. H. Kwon., J. Lee., H.Lee., K. H., Miyamoto., and K.T, Lee. 2001. Kalopanaxsaponin A is a basic saponin structure for the antitumor activity of hederagenin monodesmosides. *Planta Med.*, 67, 118-121pp.
- Singh, A., Om.P.Sharma., Raj finder K. Dawra., Sarbjit S. Kanwar., S. Sarbjit., and Shashi B. Mahato.1999. Biotransformation of lantadene A(22-angeloyloxy3-oxoolean-12-en-28-oic acid), the pentacyclic triterpenoid, by *Alcaligenes faecalis*. *Biodegradation* 10: 373-381pp, *Kluwer Academic Publishers*.
- Sudiana, K,I. 2008. *Patobiologi Molekuler Danker*. Salemba Medika, Jakarta. 55-60 hlm.
- Takaya, Y., H. Uchisawa., H. Matsae., B. Okuzaki., F. Narum., J Sasoki., and P. Ishida, 1994. An Investigation of the Antitumor Peptidoglycan Fraction from Squid Ink. *Biological pharmacy*. 17 : 846-849 pp.
- Tao, J., Guo-Qiang, Lin., A. Liese. 2009. *Biocatalysis for the pharmaceutical industry Discovery, Development, and Manufacturing*. John Wiley & Sons (Asia) Pte Ltd. Singapore. 104-106 pp.