

**POTENSI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BLT2 BAKTERI
ENDOSIMBION CACING TANAH *Lumbricus* sp. TERHADAP
BAKTERI PATOGEN MELALUI UJI IN VITRO DAN IN SILICO**

**ANDI WIRDANI PETTALOLO
H052192005**



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**POTENSI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BLT2 BAKTERI
ENDOSIMBION CACING TANAH *Lumbricus* sp. TERHADAP BAKTERI
PATOGEN MELALUI UJI IN VITRO DAN IN SILICO**

*Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai
Gelar Magister Program Studi Biologi Departemen Biologi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Hasanuddin*

**ANDI WIRDANI PETTALOLO
H052192005**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

POTENSI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BLT2 BAKTERI
ENDOSIMBION CACING TANAH *Lumbricus* sp. TERHADAP BAKTERI
PATOGEN MELALUI UJI IN-VITRO DAN UJI IN-SILICO

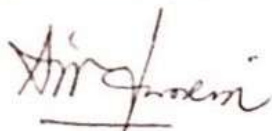
DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH

ANDI WIRDANI PETTALOLO
NOMOR POKOK: H052192005

Telah dipertahankan dihadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi program magister Departemen Biologi Universitas Hasanuddin pada tanggal 31 januari 2022 dinyatakan memenuhi syarat kelulusan

Disetujui oleh:

Ketua Penasehat



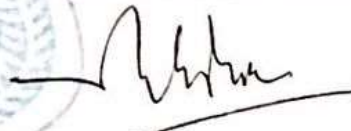
Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain, DEA
NIP. 196005251986012001

Ketua Program Studi Biologi



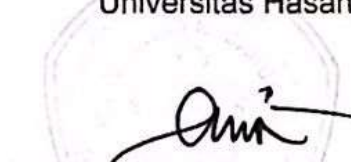
Dr. Ir. Slamet Santoso, M.Si
NIP.196207261987021001

sekertaris penasehat



Dr. Nur Haedar, S.Si., M.Si
NIP. 196801291997022001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng Amiruddin, M.Si
NIP.1972051519970021002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Andi Wirdani Pettalolo

Nomor Mahasiswa : H052192005

Program studi : S2 BIOLOGI

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 14 Februari 2022

Yang menyatakan



Andi Wirdani Pettalolo

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatu...

Salam sejahtera untuk kita semua.....

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas Ridho, Limpahan Rahmat, Hidayah dan Karunia-Nyalah sehingga penulis diberikan kesabaran, kesempatan dan kemudahan untuk menyelesaikan tugas akhir penulis yang berjudul “Potensi Senyawa Antibakteri Dari Isolat BLT2 Bakteri Endosimbion Cacing Tanah *Lumbricus* Sp. Terhadap Bakteri Patogen Melalui Uji *In Vitro* Dan *In Silico*” sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan tugas akhir (Thesis) di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis, Ayahanda Mustapa Amir Saleh (Alm) dan Ibunda Fitriani Pettalolo, S.Pd, saudaraku tercinta Andi Miftahul Husna, A.Md. Kes, Andi Nur Safitri, Andi Mohammad Fauzan dan adik ipar saya Briptu Rahmad Hidayat beserta keluarga besar yang tiada henti-hentinya memberikan do'a, semangat, motivasi, dan nasehat-nasehat dengan penuh keikhlasan, kesabaran serta kasih sayang yang tiada tara.

Penulis menyadari sepenuhnya, dalam penyusunan tesis ini tidak terlepas dari hambatan dan tantangan. Namun berkat kerja keras dan motivasi dari pihak-pihak langsung maupun tidak langsung yang memperlancar jalannya penyusunan tesis ini. Olehnya itu, secara mendalam penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Prof. Dr. Hj. Dirayah Rauf Husain, DEA selaku pembimbing utama yang telah memberikan arahan, nasehat, bimbingan dan motivasi kepada penulis. Terima kasih juga saya ucapkan kepada Dr. Nur Haedar, S.Si., M.Si selaku pembimbing kedua, yang telah memberikan arahan, nasehat, bimbingan dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Dwi Aries Tina Pulubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin. M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya.
3. Bapak Dr. Slamet Santosa, M.Si selaku Ketua Prodi Jurusan Biologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala ilmu, arahan serta bimbingan kepada penulis.
4. Bapak Prof. Dr. Fahrudin, M.Si, Ibu Dr. Rosana Agus, M.Si dan Ibu Dr. Elis Tambaru, M.Si selaku Dosen Penguji.

5. Seluruh dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan, serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi.
6. Saudara Rihuh Wardani, S.Si, Kak Fuad Gani, S.Si, adinda Auliya dan Zilza yang sudah membantu penulis dalam memberikan masukan dan saran kepada penulis.
7. Partner sekamar saya Nur hayati kamaruddin, S.Arc tidak lain sepupu sekali saya, yang selalu saling menyemangati satu sama lain dan sekarang sedang berjuang bersama untuk meraih gelar Master Arsitektur di UNHAS.
8. Partner penelitian saya, saudara Hayati, S.Si yang selalu menyemangati, membantu dan memotivasu penulis baik moral maupun moril.
9. Teman-teman Pasca Biologi angkatan 2019-2 yang tercinta, Kak Horti Alam, S.Si., M.Si, Hayati, S.Si., Alif Rahman Habibi, S.Si., M.Si dan Nurman, S.Si. Terima kasih atas kerjasama dan motivasinya selama ini, semoga kita semua senantiasa diberikan kemudahan dalam urusan kita.
10. Mereka yang tersayang Neurothemis '12, Risma, S.Si, Sri Amaliah Gobel, S.Si, Nurul Hidayah S.Si, Dian Muh. Fauzan, S.Si, sahabatku Butet, Nilam, Dewi Masyitah, Viona, Dewi, Nisa (Mama Hafis), Dwi (Uma Syifa), Salwa dan Rahma yang selalu memberi dukungan tiada henti, serta motivasi kepada penulis selama penulis menyelesaikan tugas akhir.

11.Om “The Tamz dan lainnya”. Terimakasih banyak sudah memberikan support sistem setiap harinya di Rumah Toddopuli Raya, BTN Taman sari, Makassar.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa hanya kepada ALLAH SWT jualah saya menyerahkan segalanya. Semoga kita semua mendapat Rahmat, Keberkahan & Rihdo dari-Nya, Aamiin...

Makassar, 31 Januari 2022
Penulis,

Andi Wirdani Pettalolo
H052 19 2005

ABSTRAK

Cacing tanah diketahui memiliki manfaat sebagai obat, tidak hanya cacing tanah tetapi juga endosimbion mikroorganisme yang terdapat pada cacing tanah diduga memiliki aktivitas antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa aktif pada isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode uji in vitro dandan menggunakan metode difusi agar dan in silico dilakukan metode docking molekuler dengan menggunakan aplikasi PyMol dan PyRx. Hasil uji daya hambat secara in vitro menunjukkan diameter zona hambat pada *Escherichia coli* 20,7 mm, *Staphylococcus aureus* 25.9 mm, *Staphylococcus epidermidis* 12,4 hal tersebut menunjukkan bahwa isolat BLT2 berpotensi sebagai agen antibakteri dengan kategori kuat berdasarkan daya daya hambat yang bersifat bakterisidal dan kemampuan ekstrak etil asetat isolat BLT2 Bakteri Endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* teridentifikasi pada uji KLT – Biaoutografi dengan nilai Rf 0,53. Hasil uji in silico menunjukkan kemampuan senyawa isolat BLT2 senyawa Isoleucine, L-Histidine, Oleoyl ethanolamide, L-Glutamic acid dan Caffeine berinteraksi dengan protein DNA Gyrase *Escherichia coli* dengan nilai binding affinity -6.5, -5.4, -6.1, -4.8, dan -6.4, protein DNA Gyrase *Staphylococcus aureus* dengan nilai binding affinity -6.1, -5.5, -5.8, -5.4 dan -6.0 protein DNA Gyrase *Staphylococcus epidermidis* dengan nilai binding affinity -6.2, -5.4, -5.1, -4.7 dan -5.7. Aktivitas antibiotik ini juga diklarifikasi aktifitasnya berdasarkan aplikasi *Lipinski's Rule of Five*. Hasil tersebut menunjukkan senyawa isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. Berpotensi sebagai agen antibiotik.

Keywords: Antibakteri, Bakteri endosimbion , In-vitro, In-silico.

ABSTRACT

Earthworms are known to have medicinal benefits. Not only earthworms, but microorganism endosymbionts found in earthworms are also thought to have antibiotic activity. The objective of this study was to determine whether the active compound in BLT2 isolates of endosymbiont bacteria *Lumbricus* sp has the potential to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria, *Staphylococcus aureus*, and *Staphylococcus epidermidis*. This research was conducted using the in vitro test method and using the agar diffusion method. The in silico the molecular docking method was carried out using the PyMol and PyRx applications. The results of the in vitro inhibition test showed that the diameter of the inhibition zone for *Escherichia coli* was 20.7 mm, *Staphylococcus aureus* was 25.9 mm, and *Staphylococcus epidermidis* was 12.4, which indicated that BLT2 isolates had the potential as antibacterial agents with a strong category based on its bactericidal inhibition and the ability of BLT2 ethyl acetate extract. Endosymbiont bacteria of earthworm *Lumbricus* sp. in inhibiting *Escherichia coli* bacteria were identified in the TLC test – Bioautography with an Rf value of 0.53. The results of the in-silico test showed the ability of BLT2 isolate compounds, Isoleucine, L-Histidine, Oleoyl ethanolamide, L-Glutamic acid, and Caffeine to interact with DNA Gyrase *Escherichia coli* with binding affinity values of -6.5, -5.4, -6.1, -4.8, and - 6.4, *Staphylococcus aureus* with binding affinity values of -6.1, -5.5, -5.8, -5.4 and -6.0 *Staphylococcus epidermidis* with binding affinity values of -6.2, -5.4, -5.1, -4.7 and -5.7. The activity of this antibiotic was also clarified based on the application of *Lipinski's Rule of Five*. These results indicate that the BLT2 isolate compounds of endosymbiont bacteria *Lumbricus* sp. are potential as an antibiotic agent.

Keywords: Antibacterial, Bacterial endosymbiont, In-vitro, In-silico.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACK	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Hipotesis Penelitian	5
F. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Cacing tanah <i>Lumbricus</i> sp	6

B. Bakteri Endosimbion	8
C. Antibiotik	9
D. Mekanisme Kerja Antibakteri	12
E. Deskripsi bakteri Uji	14
F. Metode Difusi Agar	18
G. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
H. Metode <i>In Silico</i>	23
I. KERANGKA KONSEPTUAL.....	25
J. DEFINISI OPERASIONAL	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
A. Rancangan Penelitian.....	28
B. Waktu dan Tempat.....	28
C. Bahan dan Alat	28
D. Objek Penelitian.....	29
E. Teknik Pengumpulan Data.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
A. Uji Antagonis.....	38
B. Uji daya Hambat secara In Vitro	40
C. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	46
D. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Bioutografi (KLT- Bioutografi) .	49
E. Uji Daya Hambat secara In Silico	51

BAB V PENUTUP	65
A. Kesimpulan	65
B. Saran	66
DAFTAR PUSTAKA.....	67
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Uji Daya Hambat Isolat BLT2	43
Tabel 2. Hasil pemisahan ekstrak etil asetat isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah (<i>Lumbricus</i> sp)	47
Tabel 3. Hasil <i>Docking</i> Isolat BLT1 Bakteri Endosimbion <i>Lumbricus</i> sp..	51
Tabel 4. Nilai <i>druglikeness</i> berdasarkan <i>Lipinski's Rule of Five</i>	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Metode Difusi Agar Kirby-Bauer.....	19
Gambar 2. Hasil Antagonis dari isolat BLT2 Bakteri Endosimbion cacing tanah (<i>Lumbricus</i> sp)	39
Gambar 3. Hasil Uji Daya Hambat Waktu 1x24 jam dari isolat BLT2 Bakteri Endosimbion cacing tanah (<i>Lumbricus</i> sp).....	41
Gambar 4. Hasil Uji Daya Hambat Waktu 2x24 jam dari isolat BLT2 Bakteri Endosimbion cacing tanah (<i>Lumbricus</i> sp).....	42
Gambar 5. Profil Kromotografi lapis Tipis (KLT) Ekstrak etil asetat isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah (<i>Lumbricus</i> sp)	47
Gambar 6. Hasil uji KLT-Bioautografi Ekstrak Etil asetat isolat BLT2 Bakteri Endosimbion cacing tanah (<i>Lumbricus</i> sp).....	49
Gambar 7. Visualisasi hasil docking antara senyawa Isoleucine dan Protein target DNA Gyrase bakteri uji.....	53
Gambar 8. Visualisasi hasil docking antara senyawa L-Histidine dan Protein target DNA Gyrase bakteri uji.....	54
Gambar 9. Visualisasi hasil docking antara senyawa Oleoyl ethanolamide dan Protein target DNA Gyrase bakteri uji	55
Gambar 10. Visualisasi hasil docking antara senyawa cis,cis-Muconic acid dan Protein target DNA Gyrase bakteri uji	56

Gambar 11. Visualisasi hasil docking antara senyawa Caffeine dan Protein target DNA Gyrase bakteri uji.....	57
Gambar 12. Visualisasi hasil docking antara Kontrol Cyprofloxacin dan Protein target DNA Gyrase bakteri uji	58

DAFTAR LAMPIRAN

1. Skema Kerja Penelitian	76
2. Skema kerja Uji Antagonis Isolat BLT2	77
3. Skema kerja Uji daya Hambat Isolat BLT2	78
4. Skema kerja Ekstraksi Isolat BLT2	79
5. Skema kerja Uji Kromatografi Lapis Tipis Isolat BLT2.....	80
6. Skema kerja Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Bioautografi Ekstrak Etil Isolat BLT2	81
7. Skema kerja Uji <i>In Silico</i>	82
8. Skema kerja Moleculer Docking	83
9. Hasil Uji Lipink's	84
10. Dokumentasi.....	86

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Cacing tanah adalah nama umum untuk anggota kelas oligochaeta, filum annelida, sesuai dengan namanya sebagian besar anggota kelompok ini hidup di tanah. Kelompok ini terutama ditemukan di tanah yang terakumulasi bahan organik di ekosistem darat, dengan beberapa spesies hidup pada kondisi perairan tertentu. Cacing tanah memainkan peran penting dalam ekosistem tanah (Ansari dan Saywack, 2011; Kamdiem, 2018).

Dalam dunia modern sekarang ini, senyawa aktif cacing tanah digunakan sebagai bahan obat. Bahkan, tidak sedikit produk kosmetik yang memanfaatkan bahan aktif tersebut sebagai substrat pelembut kulit, pelembab wajah, dan antiinfeksi. Menurut Do Tat Loi dan Ba Hoang dari Vietnam, praktisi pengobatan konvensional dan pengobatan tradisional Cina, telah membuktikan efektivitas cacing tanah untuk mengobati pasien-pasiennya yang mengidap stroke, hipertensi, penyumbatan pembuluh darah dan berbagai penyakit infeksi lainnya. Resep-resepnya telah banyak dijadikan obat paten untuk pengobatan alergi, radang usus, dan stroke (Suryani, 2010).

Cacing tanah memiliki mekanisme imunitas terhadap bakteri patogen dengan cara menghasilkan hyalin, granular *amoebocytes* dan *chloragocytes* (cooper dan Roch, 2003). Hyaline dan granular amoebocytes mempunyai

kemampuan dalam proses fagositosis, *chloragocytes* menghasilkan produk ekstraseluler yang bersifat sitotoksik dan antibakteri (Dales dan Kalac, 1992).

Antibakteri diartikan sebagai bahan atau suatu komponen kimia yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen (Schofield, 2015). Bakteri memiliki kemampuan yang menarik untuk hidup bersama organisme lain sebagai endosimbion. Endosimbion adalah interaksi antara organisme (inang) dan organisme lain yang hidup di tubuh inang (Casem, 2016) Kedua organisme tersebut dapat berinteraksi mutualisme, komensalisme, parasitisme, atau sebagai patogen (Leung dan Poulin, 2008).

Beberapa penelitian sebelumnya menemukan bahwa bakteri endosimbion hidup di berbagai organisme yang dapat menjadi sumber senyawa antibiotik. Bakteri endosimbion cacing tanah *Verminephrobacter* (*Betaproteobacteria*) yang hidup di cacing tanah nephridia dapat menghasilkan senyawa antibiotik yang potensial (Lund, *et al.*, 2014). Bakteri endosimbion dari cacing tanah *Pheretima* sp memiliki aktivitas antibakteri juga telah diteliti oleh Husain *et al.*, 2018. Bahkan beberapa spesies cacing tanah dari genus *Lumbricus* juga diketahui berpotensi sebagai menghasilkan zat antibiotik. Penelitian sebelumnya hanya terfokus pada pemanfaatan *Lumbricus* sp. sebagai sumber senyawa antibiotik melalui ekstraksi. Sedangkan bakteri endosimbion *Lumbricus* sp. membutuhkan eksplorasi yang lebih dalam (Mathur, *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian di atas dan melihat resistensi bakteri patogen maka dilakukan penelitian dengan menggunakan bahan alam sebagai penghasil antibakteri yaitu isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. dalam menghambat pertumbuhan terhadap bakteri patogen yaitu bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* melalui uji *in vitro* dan *in silico*. Uji *In vitro* merupakan uji yang mengacu pada prosedur eksperimental yang dilakukan terhadap mikroorganisme (Balouiri dan Ibensouba, 2016). Uji *in silico* adalah uji yang memanfaatkan teknik skrining virtual atau metode komputasi yang digunakan untuk mensimulasikan penemuan dan pengembangan obat-obatan (Mukesh dan Kumar, 2011). Penggunaan uji *in vitro* dan *in silico* dilakukan agar hasil dari uji *in vitro* dan uji *in silico* dapat saling mendukung dan memperkuat hasil temuan satu sama lain.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana potensi senyawa aktif pada isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen secara *in vitro* ?
2. Bagaimana kemampuan senyawa aktif isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. dalam berikatan dengan protein target pada bakteri patogen ?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengkaji apakah senyawa aktif pada isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen secara *in vitro*.
2. Mengkaji kemampuan senyawa aktif isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. dalam berikatan dengan protein target pada bakteri patogen.

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diharapkan senyawa aktif yang dihasilkan oleh isolat BLT2 bakteri endosimbium cacing tanah *Lumbricus* sp. dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik.
2. Diharapkan penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

E. Hipotesis Penelitian

1. Senyawa yang dihasilkan dari isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.
2. Hasil uji in silico akan mendukung uji in vitro.

F. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini menggunakan isolat BLT2 bakteri endosimbion cacing tanah *Lumbricus* sp. sebagai penghasil senyawa antibakteri yang diujikan kepada bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Cacing tanah *Lumbricus* sp.

Cacing tanah *Lumbricus* sp. memiliki warna yang kemerahan, dan panjang tubuhnya yaitu sekitar 7,5 – 10 cm, jenis cacing tanah *Lumbricus* memiliki tubuh yang berbentuk gilig, didalam tubuh cacing ini terdapat segmen dalam dan luar, terdapat rambut pada tubuhnya, tidak berangka, memiliki kutikula yang berfungsi untuk melindungi tubuhnya, bergerak menggunakan otot yang berada diseluruh tubuhnya. Memiliki segmen tubuh yang berkisar antara 90- 195 dan pada segmen ke 27-32 terdapat kitelum. Klitelum adalah alat yang digunakan cacing untuk bereproduksi dan kitelum baru akan muncul saat cacing memasuki usia dewasa yaitu antara umur sekitar 2 bulan (Palungun, 1999).

Berikut ini merupakan klasifikasi dari cacing tanah *Lumbricus* sp. (Ciptanto dan Paramita, 2011).

Kingdom : Animalia
Filum : Annelida
Kelas : Oligochaeta
Ordo : Haplotaxida
Famili : Lumbricidae
Genus : *Lumbricus*
Spesies : *Lumbricus* sp.

Cacing tanah merupakan hewan tanah yang mudah dibudidayakan, serta memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi. Cacing tanah mempunyai banyak manfaat, diantaranya memperbaiki dan mempertahankan struktur tanah, meningkatkan daya serap air permukaan tanah, menyuburkan tanah, sebagai pakan bagi ikan, ternak dan hewan piaraan serta bahan obat dan kosmetik (Manarung, *et al.*, 2011).

Cacing tanah memiliki kemampuan untuk menyuburkan tanah melalui keterkaitannya dengan organisme dari vermikompos dan sebagai sumber makanan ternak. Selain itu cacing tanah memiliki manfaat yang sangat besar, untuk dikonsumsi oleh manusia sebagai sumber protein hewani dan pengobatan tradisional (Darmi, 2003).

Menurut Marialigeti (1979), bahwa cacing tanah yang digunakan sebagai obat-obatan tidak hanya dari senyawa cacing tanah tersebut tetapi terdapat mikroorganisme yang bersifat endosimbion pada cacing tanah yang memiliki senyawa antibiotik. Mikroorganisme sangat berperan penting dalam memanfaatkan bahan organik yang terdapat pada saluran pencernaan cacing tanah yang dapat membantu cacing tanah dalam menghasilkan senyawa antibiotik dalam menghambat mekanisme kerja dari *Salmonella typhi*.

Mekanisme yang dilakukan oleh protein yang dimiliki oleh cacing tanah *Lumbricus* sp. adalah dengan membuat pori di dinding sel bakteri sehingga hal ini menyebabkan sitoplasma sel bakteri menjadi terpapar dengan lingkungan luar yang dapat menyebabkan kematian bakteri. Senyawa anti

bakteri yang di miliki oleh *Lumbricus rubellus* dikenal dengan nama Lumbricin-I yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel bakteri gram positif dan gram negatif (Arslan, 2008).

B. Bakteri Endosimbion

Menurut Brito-vega dan Espinosa-victoria (2009), cacing tanah secara endogen (di dalam saluran pencernaannya) dapat menstimulasi atau menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri penting. Ini berkaitan dengan aktivitas beberapa jenis bakteri pada saluran pencernaan cacing tanah tersebut (endosimbion). Cacing tanah hidup berdampingan dengan berbagai organisme seperti virus dan bakteri yang melimpah di tanah, oleh karena itu cacing tanah mensekresikan senyawa tertentu agar dapat melindungi diri dari serangan bakteri atau virus (Verma dan Verma, 2012).

Bakteri Endosimbion adalah interaksi antara organisme (inang) dan organisme lain yang hidup di tubuh inang (Casem, 2016) Kedua organisme tersebut dapat berinteraksi mutualisme, komensalisme, parasitisme, atau sebagai patogen (Leung dan Poulin, 2008).

Bakteri endosimbion memiliki hubungan yang saling menguntungkan. Seperti pertahanan diri dari pestisida (Agamennone *et al.*, 2015), melindungi diri dari bakteri patogen (Budiarti *et al.*, 2016). Bakteri ini menghasilkan enzim untuk mendegradasi dan memberikan nutrisi bagi hewan dekomposer (Brune, 2014). Enzim yang dihasilkan oleh bakteri endosimbion ini berupa enzim hidrolitik. Enzim hidrolitik adalah enzim yang mampu memecah ikatan

kimia dengan menggunakan air, sehingga ikatan kimia tersebut menjadi ikatan yang sederhana (Betcher *et al.*, 2012) dan memproduksi karbon, nitrogen, asam amino (Bahrndorf *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa bakteri endosimbion hidup di berbagai organisme yang dapat menjadi sumber senyawa antibiotik. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Husain *et al.*, (2018) Menyatakan bakteri endosimbion dari cacing tanah *Pheretima* sp memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Harmatang (2013) menyatakan isolat bakteri genus *Bacillus* yang diisolasi dari cacing tanah *Pheretima* sp yang bersifat bakteoristatik, mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*. Bahkan beberapa spesies cacing tanah dari genus *Lumbricus* juga diketahui berpotensi sebagai menghasilkan zat antibiotik. Abidin (2014) menyatakan bahwa isolat bakteri dari cacing tanah *Lumbricus rubellus* dari berbagai substrat menunjukkan kemampuan dalam menghasilkan senyawa antibiotik terhadap bakteri patogen *Salmoella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa cacing tanah mempunyai kemampuan sebagai antibiotik.

C. Antibiotik

Antibiotik pertama kali ditemukan oleh Paul Ehrlich pada tahun 1910. Antibiotik pertama kali diperkenalkan pada pengobatan manusia pada tahun 1940 dan antibiotik telah digunakan secara luas dalam 60 terakhir. Obat yang digunakan secara sistematis untuk mengobati infeksi bakteri atau lebih

tepatnya obat antibakteri yang digunakan untuk mengobati penyakit menular hingga sekarang. Antibiotik adalah zat-zat kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan untuk mematikan bakteri dan mikroorganisme lainnya. Beberapa antibiotik dapat digunakan untuk pengobatan kanker serta penyakit infeksi lainnya, seperti fungi, protozoa dan lain-lain (Schofield, 2015).

Resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik merupakan mekanisme alami untuk bertahan hidup. Ketika tubuh manusia terinfeksi bakteri patogen maka pengobatan yang harus dilakukan adalah dengan mengonsumsi antibiotik, bakteri yang peka terhadap antibiotik akan menghambat pertumbuhannya, jika tidak bakteri tersebut akan mati meski bakteri resisten, penggunaan antibiotik tidak akan menghasilkan efek apaun. Resistensi terhadap antibiotik akan terus meningkat dan patogenesitas akibat infeksi akan terus berlanjut, sehingga jenis antibiotik yang sama sudah tidak tersedia lagi dan antibiotik baru harus terus dicari (Fishbach dan Walsh, 2009).

Mikroorganisme berperan penting dalam produksi antibiotik dan obat lainnya yang digunakan mengobati penyakit yang serius, dari semua produk alami bioaktif dilorkan, sekitar 10% dari mikroorganisme antara 38.500 senyawa antibiotik yang aktif secara biologis sekitar 16.00 menunjukkan aktivitas antibakteri (melawan bakteri Gram-positif, Gram-negatif dan bakteri lain misalnya *Mycobacterium*), menunjukka antijamur (jamur mikrokopis,

jamur khamir dll) sekitar 700 memiliki aktivitas antiprotozoa (Boucher *et al.*, 2009).

Berdasarkan spektrum kerjanya, antibiotik dibagi atas dua kelompok yaitu antibiotik dengan aktivitas spektrum luas (*broad spectrum*) dan aktivitas spektrum sempit (*narrow spectrum*) (Lewis, 2013).

a. Antibiotik spektrum luas (*broad spectrum*)

Spektrum luas, bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur.

b. Aktivitas spektrum sempit (*narrow spectrum*)

Antibiotik spektrum sempit bekerja terhadap gram negatif atau gram positif saja.

Antibiotik berdasarkan daya bunuhnya dibagi menjadi dua yaitu antibakteriostatik dan antibakteri bakterisidal (Lewis, 2013).

a. Bakteriostatik

Antibakteri ini bekerja dengan menghambat atau mencegah pertumbuhan bakteri, tidak membunuhnya sehingga sangat bergantung pada daya tahan tubuh. Kerjanya menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom.

b. Bakterisidal

Antibakteri ini bekerja dengan membunuh, secara aktif membasmi bakteri. Biasanya digunakan pada area infeksi dimana imun system inang tidak dapat menjangkau secara maksimal.

D. Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri digolongkan berdasarkan susunan kimia dan sasaran kerjanya, meliputi penghambatan sintesis atau merusak dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat jalur metabolisme.

a. Merusak dinding sel

Dinding sel bakteri berfungsi menentukan bentuk serta melindungi bagian dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik. Dalam sel terdapat sitoplasma yang dilapisi membran sitoplasma dimana tempat berlangsungnya proses biokimia sel. Mekanisme kerja antibiotik agar dapat menghambat pertumbuhan mikroba yaitu dimulai dengan merusak dinding sel dengan menghambat sintesis protein yang menyebabkan hilangnya viabilitas dan menyebabkan kematian sel (Kapoor *et al.*, 2017; O'Rourke *et al.*, 2020).

b. Menghambat sintesis protein

Sel mikroba mensintesis protein di dalam ribosom dan bekerja sama dengan mRNA dan tRNA untuk bertahan hidup, gangguan sintesis protein berakibat sangat fatal karena dapat menyebabkan kode mRNA salah baca oleh tRNA, sehingga terbentuk protein abnormal, antibiotik yang memiliki mekanisme kerja seperti ini mempunyai daya antibakteri sangat kuat (Kapoor *et al.*, 2017; O'Rourke *et al.*, 2020).

c. Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Asam nukleat merupakan bagian penting dari perkembangbiakan sel. Kebanyakan sel tergantung pada sintesis DNA atau RNA yang dibutuhkan untuk proses transkripsi, serta menentukan informasi sintesis protein dan enzim. Bagian dari RNA yaitu t-RNA, r-RNA, m-RNA, masing-masing mempunyai peranan pada sintesis protein. Jadi, jika kerusakan apapun pada sintesis DNA atau RNA terjadi dapat menyebabkan pertumbuhan sel terganggu. Antibiotik yang mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein mempunyai mekanisme kerja yang berbeda diantaranya: Mempengaruhi replikasi DNA, Mempengaruhi transkripsi, Mempengaruhi pembentukan aminoacyl-tRNA dan Mempengaruhi translasi (Kapoor *et al.*, 2017; O'Rourke *et al.*, 2020).

d. Menghambat jalur metabolisme

Beberapa antibiotik membunuh dan menghambat dengan cara menghancurkan metabolisme utama dari mikroba, mekanisme ini yaitu cara paling efektif untuk membunuh mikroorganisme. Seperti mekanisme kerja antibiotik Sulfonamida dan trimetoprim menghambat tahapan berbeda dari jalur metabolisme yang memicunya sintesis asam folat dan akhirnya menghambat sintesis koenzim untuk biosintesis nukleotida (Kapoor *et al.*, 2017; O'Rourke *et al.*, 2020).

E. Deskripsi umum Bakteri Uji

a. *Escherchia coli*

Berikut adalah klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli* :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Species : *Escherichia coli* (ncbi.nlm.nih.gov)

Pada tahun 1885, Theodor Escherich menemukan *Escherchia coli* dan bakteri ini merupakan bakteri gram negatif enterik (*Enterobacteriaceae*), *Escherchia coli* berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 μm , berdiameter 0.5 μm dan volume sel E.coli berkisar 0.6-0.7 m^3 , fakultatif aerobik tumbuh dengan baik pada media sederhana, dapat menfermentasi laktosa dan glukosa serta dapat menghasilkan gas, *Escherchia coli* juga merupakan bakteri flora normal, hidup pada usus besar manusia serta membantu dalam memproduksi vitamin K yang penting untuk pembekuan darah (Percival dan Williams, 2013). *Escherichia coli* dapat menjadi penyebab penyakit seperti diare dan infeksi saluran kemih. *Escherichia coli* bersifat patogen apabila jaringan lain diluar saluran pencernaan (khususnya saluran kemih, saluran empedu, paru-paru, dan selaput otak)

yang dapat menyebabkan peradangan pada tempat-tempat tersebut (Estrada *et al.*, 2013).

Eschericia coli adalah bakteri yang hanya bisa dibunuh oleh antibiotik, bakteri ini tidak dapat dibunuh dengan pendinginan maupun pembekuan. Sinar ultraviolet (UV) atau suhu tinggi yang mencapai >1000 °C. Suhu tinggi ini akan merusak protein dalam sel dan tidak dapat membuatnya hidup kembali (Kaper *et al.*,2004). Hal ini dikarenakan pada bakteri yang tergolong gram negatif memiliki lapisan dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri gram positif. Oleh karena itu, senyawa antibakteri lebih sulit untuk berdifusi ke dalam membran sel bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki 3 lapisan yaitu lipopolisakarida, protein dan fosfolipid. Pada membran terluar terdapat porin yang bersifat hidrofilik (Johson *et al.*, 2013).

b. *Staphylococcus aureus*

Berikut adalah klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*:

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus* (ncbi.nlm.nih.gov)

Staphylococcus berasal dari bahasa Yunani ialah “*Staphyle*” berarti sekelompok anggur dan “*Coccus*” yang berarti berry. *Staphylococcus aureus* termasuk golongan bakteri gram-positif, permukannya halus, koloni biasanya berwarna putih atau kuning, diameter berkisar 0,5-1,0 μM termasuk organisme anaerob dan aerob fakultatif. Hampir semua *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagulase, bersifat katalase positif dan oksidase negatif (Tong *et al.*, 2015).

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan berbagai penyakit menular seperti infeksi kulit, radang paru-paru, saluran pernafasan, saluran pencernaan, bakteremia, endokarditis, dan menyebabkan keracunan makanan. Lima tahap yang melibatkan proses infeksi *Staphylococcus aureus* ialah: (1) kolonisasi, (2) lokal infeksi, (3) penyebaran sistemik atau sepsis, (4) infeksi metastasis (5) toksinosis. *Staphylococcus aureus* resistensi terhadap beberapa kelas antibiotik, sehingga menjadikan *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang berbahaya dan sulit diobati (Tong *et al.*, 2015).

c. Staphylococcus epidermidis

Berikut adalah klasifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* :

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus epidermidis* (ncbi.nlm.nih.gov)

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri gram positif, yang bentuknya menonjol, halus, berkilau, tidak menghasilkan pigmen, berwarna putih porselen dan tidak meragi manitol. sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia, namun bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri patogen yang bersifat oportunistik yaitu menyebabkan infeksi pada manusia yang imunitasnya lemah (Karimela *et al.*, 2019), infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini biasanya timbul dengan tanda-tanda khas yaitu pembentukan abses dan bertanggung jawab atas penyakit yang menyebar keseluruhan tubuh dengan permukaan kulit sebagai habitat (Nguyen *et al.*, 2017).

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara alami hidup dimembran kulit dan membran mukosa manusia (Otto, 2012). Bakteri *Staphylococcus epidermidis* umumnya telah resisten terhadap antibiotik pinisilin dan metisilin. Penelitian yang dilakukan oleh Roger, 2019 (didalam Maftuhah, 2015) menyatakan bahwa penggunaan metilisin menyebabkan resistensi terhadap antibiotik lain seperti rifamisin, gentamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritrimisin, clindamisin dan sulfonamid.

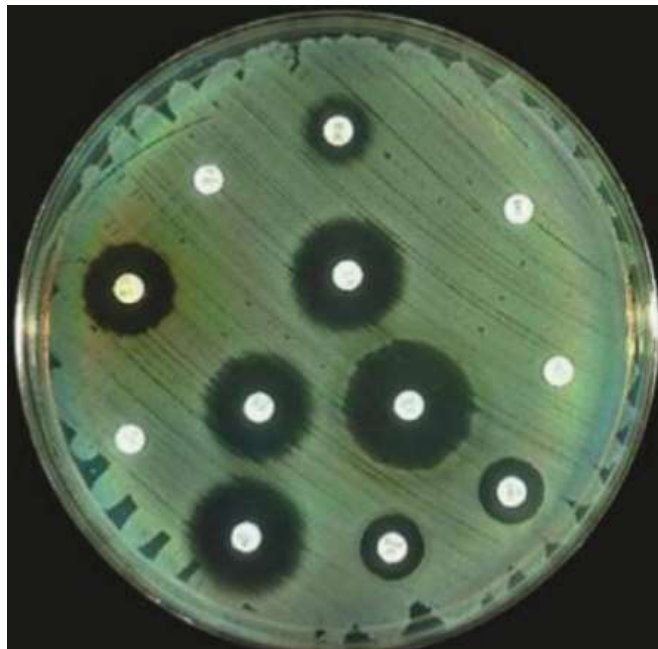
F. Metode Difusi Agar

Berbagai macam metode *In Vitro* yang bisa digunakan untuk mengevaluasi atau skrining aktivitas antibakteri dari ekstrak murni atau ekstrak kasar senyawa, salah satunya metodenya yang sering digunakan yaitu metode difusi. Pengujian metode difusi agar di sini dikembangkan pada tahun 1940, metode ini telah banyak digunakan oleh laboratorium mikrobiologi klinis untuk menguji kerentanan antibakteri. Ada beberapa metode difusi yang diantaranya yaitu metode *disc diffusion* atau metode Kirby-Baure, *Ditch plate technique*, *Cup-plate technique*, metode *E-Test* dan *Gradient-plate technique*. Diantara metode tersebut yang paling sering digunakan dalam pengujian bakteri ialah metode difusi agar Kirby-Bauer (Balouiri dan Ibnusoiuda, 2016).

Uji Kirby-Bauer atau difusi cakram adalah salah satu teknik mikrobiologi klasik yang masih sangat umum digunakan. Metode ini memiliki banyak keunggulan yaitu, efisiensi waktu, biaya yang relatif lebih murah, kemudahan dalam mengenali biakan, fleksibilitas yang lebih besar dan kemudahan menafsirkan hasil yang ditemukan adapun kelemahan dari metode ini ialah tidak dapat membedakan efek bakterisidal dan bakteristatik (Atlas,2004).

Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi agar ialah: Jenis media yang digunakan, kepadatan inokulum yang akurat, kondisi dan waktu inkubasi, penempatan *paper disc* yang harus diletakkan kuat pada permukaan agar serta ketebalan agar dalam cawan petri. ketebalan agar

dalam cawan mempengaruhi ukuran zona hamba yang terbentuk (Balouiri dan Ibnusoiuda, 2016). Pada perlakuan ini, *paper disc* direndam dengan antibiotik yang konsentrasinya telah ditentukan. *Paper disc* kemudian diletakkan pada permukaan agar yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Zona hambat yang terbentuk akan menjadi indikator adanya hambatan pertumbuhan mikroorganismenya oleh agen antibakteri. Zona hambat yang terbentuk akan diukur hingga milimeter terdekat. *Paper disc* yang harus digunakan dan dibuat dengan spesifikasi yang akurat seperti dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan AS (FDA), WHO dan DIN. Menurut Atlas, 2014 standar DIN memiliki kisaran paling ketat dengan konsentrasi antibiotik ialah 90% hingga 125%.



Gambar 1. Metode Difusi Agar Kirby-Bauer.

G. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Istilah kromatografi digunakan pada beberapa teknik pemisahan berdasarkan pada “migration medium” yang berbeda, yaitu distribusinya terhadap fase diam dan fase gerak. Terdapat 3 hal yang wajib pada teknik ini. Pertama harus terdapat medium perpindahan tempat, yaitu tempat terjadinya pemisahan. Kedua harus terdapat gaya dorong agar spesies dapat berpisah sepanjang “migration medium”. Ketiga harus terdapat gaya tolakan selektif. Gaya yang terakhir ini dapat menyebabkan pemisahan dari bahan kimia yang dipertimbangkan (Sienko *et al.*, 1984).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. Lapisan yang memisahkan terdiri atas fase diam dan fase gerak. Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium. Jika fase diam berupa silika gel maka bersifat asam, jika fase diam alumina maka bersifat basa. Fase gerak yang digunakan umumnya merupakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik (Gritter, *et al.*, 1991).

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah suatu teknik yang sederhana yang banyak digunakan, metode ini menggunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang ditutupi penyerap atau lapisan tipis dan kering. Untuk menotolkan larutan cuplikan pada lempeng kaca, pada dasarnya menggunakan mikro pipet atau pipa kapiler. Selain itu, sebagian bawah dari

lempeng dicelup dalam larutan pengelusi di dalam wadah yang tertutup (Soebagio, 2002).

Prinsip dari metode KLT adalah sampel ditotolkan pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya. Salah satu fase diam yang paling umum digunakan adalah silika gel F254 yang mengandung indikator flourosesi ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Fase gerak terdiri dari satu atau beberapa pelarut (dengan perbandingan volume total 100) yang akan membawa senyawa yang memiliki sifat sama dengan pelarut tersebut (Gritter, *et al.*, 1991).

Menurut Gandjar dan Rohman (2007). Identifikasi dari senyawa-senyawa hasil pemisahan KLT dapat dilakukan dengan penambahan reaksi kimia dan reaksi warna. Tetapi kebanyakan yang digunakan untuk mengidentifikasi yaitu menggunakan harga R_f . *Retardation factor* (R_f) merupakan parameter karakteristik KLT. Harga R_f dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana persamaan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai R_f adalah:

- a. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b. Sifat penyerap (adsorben) dan derajat aktifitasnya
- c. Pelarut sebagai fase gerak dan derajat kemurniannya
- d. Kejenuhan dari uap dalam chamber
- e. Jumlah cuplikan yang digunakan.

Harga maksimum R_f adalah 1, sampel bermigrasi dengan kecepatan sama dengan eluen. Harga minimum R_f adalah 0, dan ini teramati jika sampel bertahan pada posisi titik awal dipermukaan fase diam, harga-harga R_f untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga R_f yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Nilai R_f sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fase diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan bertahan kuat pada fase diam. Sehingga menghasilkan nilai R_f rendah (Gandjar dan Rohman, 2007).

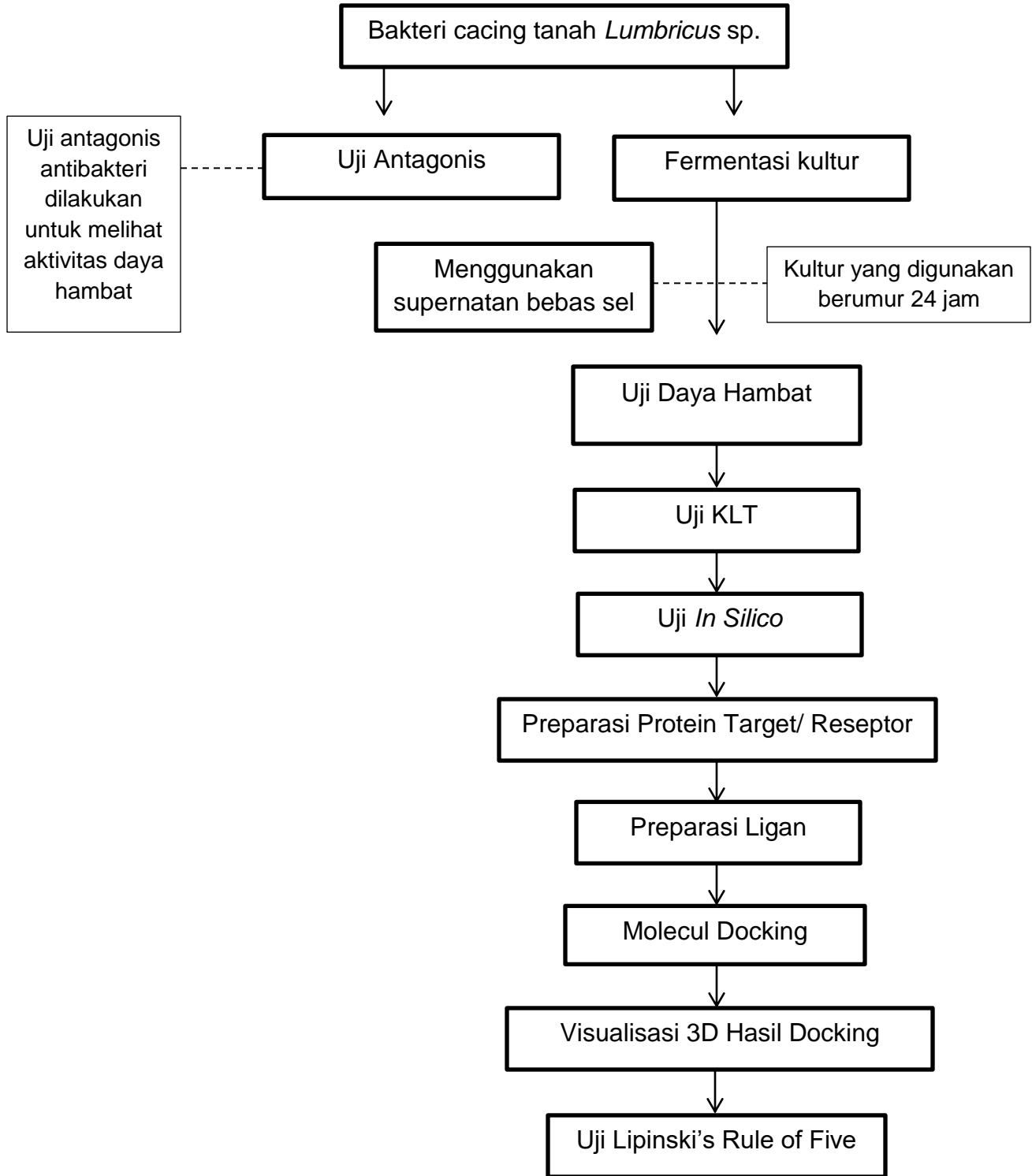
H. Metode *In Silico*

In silico adalah suatu metode percobaan atau pengujian yang dilakukan melalui pendekatan pada suatu keadaan yang nyata dan berbasis bioinformatika. Metode *in silico* ini memiliki beberapa cakupan diantaranya yaitu: (1) *Studi docking* yaitu pembelajaran dimana ligan dipelajari secara komputasi yang akan berkaitan dengan protein target. (2) Formasi kimiawi, dimana aktivitas dan struktur dikorelasikan menggunakan sarana statistika. Kegunaan metode ini yaitu diantaranya digunakan sebagai penemuan senyawa baru, meningkatkan efisiensi dalam aktivasi senyawa induk, memprediksi dan dapat memberi hipotesis (Geldenhuis, 2006).

Metode uji *In Silico* yang akan digunakan pada penelitian ini ialah *molekuler docking*. *Molekuler docking* adalah suatu metode simulasi teori berbasis informatika, yang mempelajari interaksi antar molekul ligan dan reseptor, dengan memprediksi mode pengikatan melalui platform komputer. Teknologi ini sebagai sarana yang menjanjikan dalam desain obat tradisional berbasis struktur, yang diterima oleh para peneliti dalam komunitas ilmiah. Proses docking melibatkan pencocokan antara ligan dan reseptor untuk mengkonformasi yang optimal dan berfokus pada kesesuaian. Selain itu, selama proses pengikatan ligan dan reseptor, struktur ikatan berubah secara konstan sehingga ikatan yang stabil berhasil dibuat. Dengan demikian distribusi muatan dan konfigurasi sistem dapat ditentukan (Tao *et al.*, 2020).

Docking menggambarkan suatu proses yang dilakukan oleh dua molekul bersamaan didalam ruang tiga dimensi (Dias *et al.*, 2008). *Molekul docking* dapat dianggap gembok dan kunci (*lock and key*), protein yang dianggap sebagai gembok dan ligan sebagai kunci. Penambatan molekul didefinisikan sebagai masalah optimasi yang menggambatkan orientasi ikatan terbaik dari ligan yang mengikat protein tertentu. Energi ikatan hasil docking merupakan parameter utama untuk mengetahui kestabilan antara ligan dan protein. Interaksi antara ligan dan reseptor akan cenderung berada pada kondisi energi paling rendah. Energi paling rendah menunjukkan bahwa molekul berada pada kondisi yang stabil, sehingga semakin rendah nilai *biniding affinity* maka interaksi ligan reseptor semakin stabil (Mukesh dan Kumar, 2011).

I. KERANGKA KONSEPTUAL



J. DEFINISI OPERASIONAL

Adapun definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Isolat BLT2 bakteri cacing tanah *Lumbricus* sp. : Merupakan sampel yang digunakan sebagai penghasil senyawa antibakteri.
2. Bakteri *Escherichia coli* : Merupakan bakteri gram negatif yang menyebabkan diare dan infeksi saluran kemih digunakan sebagai bakteri uji.
3. Bakteri *Staphylococcus aureus* Merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan infeksi pada saluran pernafasan, pencernaan, radang paru-paru dan menyebabkan keracunan makanan digunakan sebagai bakteri uji.
4. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* : Merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan penyakit yang menyebar keseluruh tubuh dengan permukaan kulit sebagai habitat digunakan sebagai bakteri uji.
5. Antibakteri : Merupakan senyawa yang dihasilkan dari isolat BLT2 bakteri cacing tanah *Lumbricus* sp. yang mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri uji dan diharapkan dapat menjadi kandidat antibiotik.
6. Uji *In vitro* : Merupakan uji yang berbasis laboratorium di antaranya, peremajaan bakteri, uji antagonis, uji daya hambat dan uji KLT.

7. Uji *In silico* : Merupakan uji yang berbasis komputer dan bioinformatika, salah satu metode ini yaitu metode *in silico* yang digunakan adalah *moleculer docking*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dan menggunakan pendekatan eksperimental. Penelitian ini menggunakan metode *in vitro* yang dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa antibakteri serta senyawa yang di hasilkan oleh isolat BLT2 bakteri endosimbion pada cacing tanah *Lumbricus* sp. Uji *in silico* dalam penelitian ini digunakan untuk menganalisis senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat BLT2 dengan menggunakan database dalam format PDB, format SDF beserta seperangkat aplikasi uji *in silico*.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Agustus 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat BLT2 bakteri cacing tanah *Lumbricus* sp, bakteri patogen yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, media *Nutrient Agar* (NA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), *Cyprofloxacin*, NaCl, alkohol 90%, alkohol