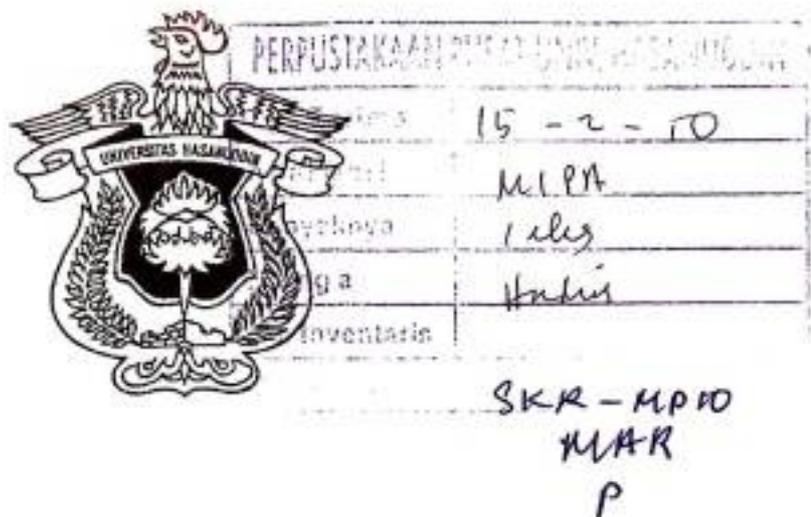




**POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK CACING TANAH  
LOKAL *Pheretima sp.* PADA PELARUT KLOROFORM  
TERHADAP BEBERAPA BAKTERI PATOGEN**

**HARLINDAH MARGAWATI**

**H 411 05 004**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK CACING TANAH LOKAL  
*Pheretima sp.* PADA PELARUT KLOOROFORM TERHADAP  
BEBERAPA BAKTERI PATOGEN**

**HARLINDAH MARGAWATI**

**H 411 05 004**

*Skripsi ini dibuat untuk Melengkapi Tugas Akhir dan memenuhi Syarat untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana*

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2010**



**HALAMAN PENGESAHAN**

**POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK CACING TANAH LOKAL  
*Pheretima sp.* PADA PELARUT KLOOROFORM TERHADAP  
BEBERAPA BAKTERI PATOGEN**

Makassar, 15 Pebruari 2010

*Disetujui oleh :*

**Pembimbing Utama**

**Dra. Hj. Zohrah Hasyim, M.Si**  
NIP. 19590322 198702 2 001

**Pembimbing Pertama**

**Prof. Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA**  
NIP. 19600525 198601 2 001

**Pembimbing Kedua**

**Prof. Dr. Ahyar Ahmad**  
NIP. 19671231 199103 1 020

## PRAKATA



*Assalamu Alaikum Wr. Wb*

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT pemilik semesta dan segala isinya. Shalawat dan salam semoga selalu dilimpahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga beliau dan segenap pengikutnya hingga akhir zaman. Atas kasih sayang, rahmat dan izin Allah SWT penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "**Potensi Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah Lokal *Pheretima sp.* pada Pelarut Kloroform terhadap beberapa Bakteri Patogen**" yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang Strata Satu (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulisan tugas akhir ini dapat terselesaikan berkat bimbingan, bantuan, dan dorongan semangat berbagai pihak. Terutama Ayahanda Kamaluddin dan Bapak Ami, Ibunda Asirah dan Mama Suginem (Mama Inang) yang telah merelakan segalanya untuk membesarkan, mendidik dan memberikan cinta kasih yang tulus selama ini. Saudara-saudaraku Kak Hasnawati, Kak Herlina, Kak Hartini dan Dik Herviana yang terus dan selalu medoakan hingga menjadi penyemangat bagi penulis. Semoga Allah 'Azza wa Jaalla memberikan sayang dan lindungan-Nya kepada kita semua.

Terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Ibu Dra. Hj. Zohrah Hasyim, M.Si selaku Pembimbing Utama, Ibu Prof. Dr. Dirayah R. Husain, DEA selaku pembimbing pertama, dan bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad selaku

pembimbing kedua yang telah memberi waktu, tenaga, pikiran dan dorongan moril, sehingga rangkaian penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik (Semoga Allah *Subhanahu wa Ta'ala* membalas kebaikan Ibu dan Bapak dengan balasan yang lebih baik).

Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta para staf
2. Bapak Ketua dan Sekertaris Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
3. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi FMIPA UNHAS
4. Rekan sepenelitian The Cacinger's : Islamiah Iskandar, Puji Utari Asri, Nurul Hidayah S.B., Rahmawati, dan Ita Puspita Bahar. Gak ada loe, gak rame!!!
5. Keluarga Kecil Biologi 2005 (BIOMA) : Fatmanugraha M. T., Nur Abu, Fitriwani Wanty, Hijral Aswad, Riskayati, Hadijah, Masira Salahuddin, Sari Sepriani Tangke, Isra Mijrayanti, Adriani Mutmainnah, Tenny Intani, Nur Faidah Munir, A. Zulkifli, Nur Alam, Fuad Gani, Nur Afiah, Saudi, Sudarmono, Marjuni, Junarli Sali, Jamil Aqbar. Hidup tak selalu seperti yang diharapkan, tapi dengan kalian hidup terasa lebih menyenangkan. Maaf, selalu merepotkan. Tak ada yang seperti kalian, you are all the best. Keep Fighting!!
6. Kanda-kanda dan adik-adik yang telah banyak membantu dan semua pihak yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Selayaknya manusia biasa, tak ada yang sempurna. Demikian pula dengan penulis dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Namun, tetap tinggi harapan penulis untuk menjadikan skripsi ini sebagai acuan yang bermanfaat bagi siapa saja.

Demikian, Semoga Allah senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua. Amin.

Makassar, Pebruari 2010

Penulis

## ABSTRACT

The research about Antibacterial Potencies of Local Earth-worm *Pheretima sp.* Extraction by using Chloroform as Solvent had been done. This research aimed to prove that the extract of this species has efectivity as antibacterial, especially for bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*. Extraction of earth-worm using maceration with cloroform as solvent. The extract was suspended using DMSO and dilute to variant concentration: 1%, 3%, 5%, 7% and 10% b/v. Antibacterial activity test of earth-worm extract by Kirby-Bauer method. The results showed that the extract has anti-microbe effect to the tested microbe. The activity of antibacterial extract of *Pheretima sp.* in cloroform solvent was highest in concentration 10% at 24 hours incubation showed inhibition zone diameter 23,23 mm for *Eschericia coli*, 9,62 mm to *Salmonella typhi*, 16,91 mm to *Staphylococcus aureus* and 10,45 mm to *Vibrio cholerae*. After 48 hours, diameter of inhibition zone decreased, then said that the extract of *Pheretima sp.* is a bacteriostatic.

**Keywords :** Earth-worm *Pheretima sp.*, Cloroform Extract, Antibacterial, Bacteriostatic

## ABSTRAK

Penelitian tentang Potensi Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah Lokal *Pheretima sp.* pada Pelarut Kloroform terhadap beberapa Bakteri Patogen telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari ekstrak kloroform Cacing Tanah Lokal *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan menggunakan kloroform sebagai penyari. Ekstrak kloroform yang diperoleh ditambahkan dengan DMSO dan diencerkan dengan konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 10% b/v yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dengan metode Kertas Saring atau Kirby-Bauer. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak memberikan efek antibakteri terhadap bakteri uji yang digunakan. Aktivitas antibakteri terbesar terdapat pada konsentrasi ekstrak 10% selama waktu inkubasi 24 jam dengan diameter zona hambatan terhadap *Escherichia coli* sebesar 23,23 mm, 9,62 mm pada *Salmonella typhi*, pada *Staphylococcus aureus* sebesar 16,91 mm serta 10,45 mm terhadap *Vibrio cholerae*. Setelah 48 jam diameter zona hambatannya menurun sehingga dikatakan cenderung bersifat bakteriostatik.

**Kata kunci :** Cacing tanah *Pheretima sp.*, Ekstrak Kloroform, Antibakteri, Bakteriostatik

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PRAKATA</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB. I PENDAHULUAN</b> .....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan.....	3
I.3 Manfaat.....	3
I.4 Waktu dan Tempat.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
II.1. Cacing Tanah .....	4
II.1.1. Cacing Tanah secara Umum .....	4
II.1.2 Morfologi dan Struktur Tubuh <i>Pheretima sp.</i> .....	5
II.1.3 Daur Hidup Cacing Tanah <i>Pheretima sp.</i> .....	8
II.1.4 Habitat dan Syarat Tumbuh .....	9

II.1.5 Kandungan Kimia Cacing Tanah .....	12
II.1.6 Klasifikasi Cacing Tanah <i>Pheretima sp.</i> .....	14
II.2 Kloroform .....	14
II.3 Bakteri Uji .....	15
II.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
II.3.1.1 Klasifikasi .....	16
II.3.1.2 Sifat dan morfologi .....	17
II.3.2 <i>Escherichia coli</i> .....	18
II.3.2.1 Klasifikasi .....	18
II.3.2.2 Sifat dan morfologi .....	18
II.3.3 <i>Salmonella typhi</i> .....	19
II.3.3.1. Klasifikasi .....	19
II.3.3.2. Sifat dan Morfologi .....	20
II.3.4 <i>Vibrio cholerae</i> .....	21
II.3.4.1 Klasifikasi .....	21
II.3.4.2 Sifat dan Morfologi .....	21
II.4 Ekstraksi .....	22
II.4.1 Pengertian Ekstraksi .....	22
II.4.2 Tujuan Ekstraksi .....	22
II.4.3 Proses Ekstraksi .....	23
II.4.4 Metode Ekstraksi .....	23

II.5 Antimikroba .....	25
II.5.1 Sifat dan Pembagian Antimikroba .....	25
II.5.2 Metode Pengujian Antimikroba .....	30
II.5.3 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba ....	33
II.5.4 Antimikroba Asal Cacing Tanah .....	35
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	36
III.1. Alat .....	36
III.2. Bahan .....	36
III.3 Cara Kerja.....	36
III.3.1 Penyiapan Sampel Penelitian .....	36
III.3.1.1 Pengambilan Sampel Cacing .....	36
III.3.1.2 Pembuatan Ekstrak Kloroform Cacing Tanah <i>Pheretima sp.</i> secara Maserasi .....	37
III.3.1.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Kloroform Cacing Tanah <i>Pheretima sp.</i> .....	37
III.3.2 Sterilisasi Alat.....	37
III.3.3 Pembuatan dan Sterilisasi Medium .....	38
III.3.3.1 Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA).....	38
III.3.3.2 Pembuatan Medium Mueller Hinton Agar (MHA) .....	38
III.3.4 Penyiapan Mikroba Uji.....	38
III.3.4.1. Peremajaan Kultur Murni Mikroba Uji.....	38
III.3.4.2. Pembuatan Suspensi Mikroba Uji.....	38



III.3.5 Pembuatan Larutan Kontrol .....	39
III.3.6 Pengujian Ekstrak Cacing Tanah .....	39
III.3.7 Pengamatan Zona Hambatan .....	39
II.4 Analisis Data.....	40
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>41</b>
IV.1. Hasil Pengujian Aktivitas Antimikroba.....	41
IV.2. Pembahasan.....	41
<b>BAB V. PENUTUP.....</b>	<b>49</b>
V.1 Kesimpulan.....	49
V.2 Saran.....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pengukuran Diameter zona hambatan dari ekstrak cacing tanah <i>Pheretima sp.</i> terhadap beberapa bakteri uji dengan masa inkubasi 24 jam dan 48 jam .....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Cacing Tanah <i>Pheretima sp.</i> .....	6
2. Struktur Tubuh Cacing Tanah .....	7
3. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
4. Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	18
5. Morfologi <i>Salmonella typhi</i> .....	20
6. Morfologi <i>Vibrio cholerae</i> .....	21
7. Mekanisme beberapa Aksi Agen Antimikroba .....	27
8. Penghambatan Sintesis Dinding Sel oleh Antibiotik .....	29
9. Mekanisme Kerja Antimikroba Menghambat Fungsi Membran sel	29
10. Aksi Antibiotik Melalui Hambatan Sintesis Asam Nukleat .....	30
11. Metode Difusi dengan Kertas Saring atau Kirby-Bauer ... ..	32
12. Metode Dilusi .....	33
13. Foto hasil uji daya hambat ekstrak cacing tanah <i>Pheretima sp.</i> terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherecia coli</i> setelah masa inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam .....	42
14. Foto hasil uji daya hambat ekstrak cacing tanah <i>Pheretima sp.</i> terhadap pertumbuhan bakteri <i>Salmonella typhi</i> setelah masa inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam .....	43

15. Foto hasil uji daya hambat ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam ..... 44
16. Foto hasil uji daya hambat ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* setelah masa inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam. .... 45

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja keseluruhan .....	53
2. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Kloroform Cacing Tanah <i>Pheretima sp.</i> .....	54
3. Skema Kerja Uji Antibakteri dengan Menggunakan Metode Kertas Saring atau Kirby-Bauer (1966) .....	55
4. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ekstrak <i>Pheretima sp.</i> dengan pelarut Kloroform terhadap beberapa Bakteri Uji .....	56
5. Grafik Hasil Pengukuran Zona Hambatan Cacing Tanah Lokal <i>Pheretima sp.</i> terhadap Bakteri Uji yang Digunakan .....	57

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Cacing tanah merupakan salah satu hewan yang memiliki potensi besar sebagai bahan obat. Di Amerika Serikat, Jepang, Kanada, Hongaria, dan Filipina, cacing sendiri dipakai sebagai bahan campuran biskuit dan minuman penyegar. Di negara Cina, ekstrak cacing tanah sudah dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik dalam bentuk tepung cacing untuk menghaluskan kulit.

Hasil penelitian Arifiyanti (2006) menunjukkan bahwa cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp.* yang telah dihaluskan dan dilarutkan dengan aquadest steril pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% (b/v) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekeliling *paper disc* pada cawan petri. Cacing tanah *Pheretima sp.* pada konsentrasi 15% (b/v) memiliki daya hambat yang lebih besar yaitu 0,125 cm dibanding dengan cacing *Lumbricus rubellus* pada konsentrasi sama hanya sebesar 0,102 cm. Sedangkan penelitian Sumarni (2006) menunjukkan bahwa ekstrak protein dari cacing tanah *Lumbricus terrestris* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat masing-masing sebesar 21,56 mm dan 22,10 mm. Penelitian tersebut menggunakan pelarut polar yaitu buffer Tris-HCl 0,1M pH 8,3.

Penelitian lain dari Misnawati (2008), dengan menggunakan ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* juga terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat terbesar masing-masing adalah 14,65 mm dan 14,20 mm, sedangkan penggunaan fraksi n-heksana *Lumbricus rubellus* memiliki daya hambat terbesar untuk masing-masing bakteri adalah 14,35 mm dan 14,75 mm pada konsentrasi 10%. Menurut Wattimena (1991), apabila pada kadar yang rendah suatu senyawa dapat memberikan diameter zona inhibisi yang luas ( $\geq 14$  mm) dan bening di sekeliling antimikroba, maka senyawa tersebut menunjukkan kemampuan antimikroba dan berpotensi sebagai antibiotik.

Ekstrak cacing tanah diperoleh dengan menambahkan suatu senyawa atau pelarut organik tertentu yang akan menyebabkan proses ekstraksi senyawa berlangsung lebih mudah dan cepat. Dalam hal ini, pelarut yang digunakan adalah kloroform yang merupakan pelarut non polar. Kloroform ini diketahui mampu menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder dari makhluk hidup, yang merupakan senyawa non polar seperti lipid dan terpenoid (Djide, 2005).

Sehubungan dengan hal-hal tersebut di atas, melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi mengenai kemampuan ekstrak kloroform dari cacing tanah lokal *Pheretima sp.* sebagai antibakteri untuk beberapa jenis bakteri patogen yang biasa menyerang masyarakat pada umumnya.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui efektifitas antibakteri ekstrak cacing tanah *Pheretima sp* yang diperoleh dengan menggunakan pelarut kloroform.
2. Mengetahui sifat ekstrak kloroform dari cacing tanah *Pheretima sp*. sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Escherichia coli*.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan cacing tanah *Pheretima sp*. sebagai antibakteri, yang diekstrak dengan pelarut non polar kloroform.

## **I.4 Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei hingga Oktober 2009. Pengambilan sampel cacing tanah *Pheretima sp*. dilakukan di Rumah Tempat Pemotongan Hewan (RTPH), Kab. Gowa. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar dan pembuatan ekstrak kloroform dilakukan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Cacing Tanah

##### II.1.1 Cacing Tanah secara Umum

Cacing tanah tergolong dalam kelompok binatang avertebrata (tidak bertulang belakang) yang hidupnya di tanah yang gembur dan lembab. Terdapat lebih dari 1.800 spesies cacing tanah yang dikenal para ilmuwan, namun hanya Sembilan spesies yang banyak dimanfaatkan terutama oleh ahli pertanian, pembudi daya cacing tanah, dan para peminat lainnya. Kesembilan jenis tersebut adalah *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, *Eisenia foetida*, *Allobophora caliginosa*, *Allobophora chlorotica*, *Pheretima asiatica*, *Peryonix axcavatus*, *Diplocordia verrucosa*, dan *Eudrilus eugeuniae*. Selanjutnya, dari sembilan spesies itu, hanya empat spesies saja yang dibudidayakan yaitu *L. rubellus*, *E. foetida*, *P. asiatica*, *E. eugeuniae* (Nuryati, 2004).

Cacing tanah tidak memiliki mata, tetapi tubuhnya terdapat prostomium. Prostomium ini merupakan organ saraf perasa dan berbentuk seperti bibir. Di bagian akhir tubuhnya terdapat anus. Anus digunakan untuk mengeluarkan sisa-sisa makanan dan tanah yang dimakannya. Cacing tanah hanya mengandalkan kulitnya untuk bernapas karena tidak memiliki alat pernapasan. Oksigen yang digunakan untuk proses metabolisme tubuh diambil dari udara dengan bantuan pembuluh darah yang terdapat di bagian kutikula (Palungun, 2003).

Cacing tanah mempunyai kisaran panjang dari beberapa millimeter sampai 91 sentimeter tapi biasanya panjangnya hanya beberapa sentimeter. Sistem pencernaan cacing tanah sangat adaptif dengan aktivitas makan (Muhammad, 2005).

Edwards dan Lofty *dalam* Wiryono (2006) menyatakan bahwa cacing tanah sudah lama dikenal berperan dalam proses dekomposisi bahan organik dan penyampuran bahan organik tersebut dengan tanah. Cacing tanah juga berperan dalam peningkatan aerasi tanah karena aktivitas mereka dalam membuat lubang dalam tanah.

### II.1.2 Morfologi dan Struktur Tubuh *Pheretima sp.*

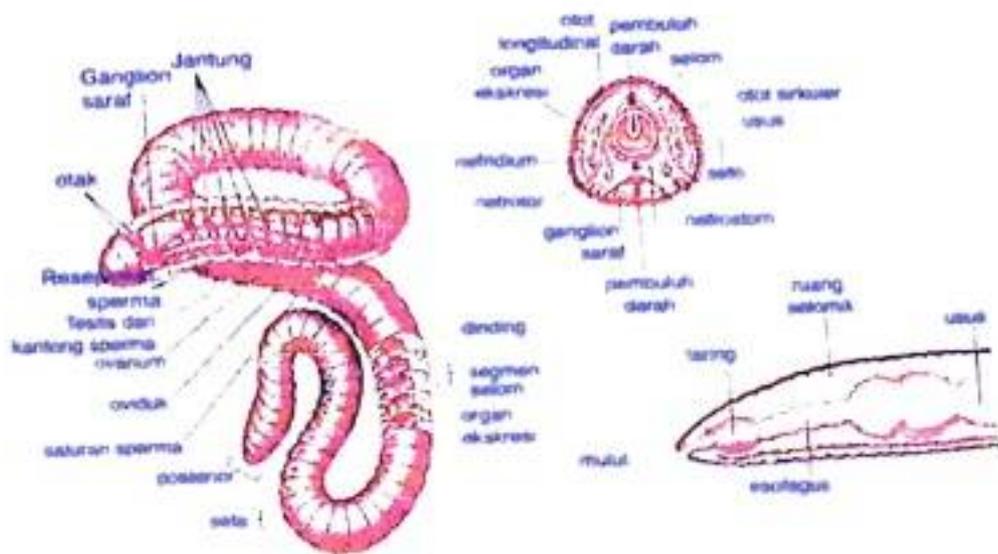
*Pheretima* memiliki bentuk tubuh gilik panjang dan silindris, berwarna merah keunguan. Bagian anterior berujung runcing, sedangkan bagian posterior lebih gepat. Bagian dorsal tubuh ditandai dengan garis kehitaman dari pembuluh darah dorsal dan pigmentasi yang lebih padat dibandingkan bagian ventral. Tubuh bersegmen, tiap segmen disebut *somite*. Antara tiap *somite* ada sekat. Hewan ini tergolong nokturnal, pada siang hari bersembunyi di dalam liang dan keluar pada malam hari. Makanannya berupa serpihan tumbuhan dan hewan yang telah mati. Termasuk jenis ini antara lain cacing merah dan cacing kalung (Oemarjati, 2000).



Gambar 1. Morfologi Cacing Tanah *Pheretima sp.*  
(www.fzrm.com)

Cacing tanah jenis *Pheretima* segmennya mencapai 95-150 segmen. Klitelumnya terletak pada segmen 14-16. Tubuhnya berbentuk gilik panjang dan silindris berwarna merah keunguan. Cacing tanah yang termasuk jenis *Pheretima* antara lain cacing merah, cacing koot dan cacing kalung (Prihatman, 2000).

*Pheretima capensis* misalnya, memiliki septa 5/6-7/8, 10/11 dan 11/12 kuat dan agak tebal, septa 8/9 dan 9/10 tidak ada. Empela seperti tong (barrel shape) atau seperti lonceng dan terletak antara septa 7/8 sampai 10/11. Usus mulai segmen XV, usus buntu mulai segmen XXVII atau XXVI menuju ke segmen XXIV atau XXIII. Kantung testis pada segmen X dan XI. Vesika seminalis besar, berpasangan, melengkung sampai ke bagian dorsum, mengisi seluruh ruangan tubuh di ruangan tubuh di segmen XI dan XII. Jantung terakhir terletak pada segmen XVII-XX, salurannya seperti huruf U dan bermuara pada kantung kopulatori di segmen XVIII. Kantung kopulatori tidak berkelenjar. Ampula dan saluran spermateka lebih pendek dari divertikulum, divertikulumnya membesar di ujung dan tidak berbelit-belit (Oemarjati, 2000).



Gambar 2. Struktur Tubuh Cacing Tanah  
(ternakancacingmelaka.blogspot.com)

Cacing tanah *Pheretima sp.* seperti cacing tanah lainnya, tidak dapat dibedakan antara jantan dan betinanya, hal ini karena cacing tanah merupakan hewan hermaphrodit, meski begitu cacing ini tidak mampu mengawini dirinya sendiri. Cacing tanah sewaktu-waktu dapat menjadi jantan atau betina, tergantung pematangan. Alat perkembangbiakan jantan terdiri dari dua pasang testis terletak di belakang corong sperma bersilia yang bersambung dengan duktus eferen. Duktus ini bersambung dengan duktus deferens atau duktus sperma yang bersambung ke liang jantan, selain itu juga terdapat seminal vesikel yang menjadi tempat mematangkan dan mengumpulkan sperma. Sperma yang matang akan keluar melalui corong dan duktus deferens (duktus sperma) yang membuka keluar semasa kopulasi. Sistem pembiakan betina terdiri dari sepasang ovari yang membebaskan ovum matang ke dalam selom. Ovum kemudian dikumpulkan oleh ovisak (pundi ovum) yang bersambung dengan oviduktus yang membuka ke

bagian luar. Sistem pembiakan betina juga terdiri dari sepasang seminal reseptakel (spermateka) yang berfungsi sebagai tempat menerima sperma semasa kopulasi dan disimpan sampai diperlukan untuk proses persenyawaan (Alpaci, 2008).

### **II.1.3 Daur Hidup Cacing Tanah *Pheretima sp.***

Cacing tanah berkembang mulai dari telur yang tersimpan dalam kokon. Kokon yang dihasilkan dari perkawinan sepasang cacing tanah dikeluarkan di atas permukaan tanah yang lembab, bila kering, kokon berada dalam tanah. Kokon yang baru keluar dari tubuhnya berwarna kuning kehijauan dan akan berubah kemerahan saat akan menetas. Kokon akan menetas sekitar 14-21 hari setelah terlepas dari tubuh cacing tanah (Palungkun, 2003).

Cacing tanah berkembangbiak sepanjang tahun. Walaupun cacing tanah merupakan hermaprodit, tetapi masih perlu melakukan proses penukaran sperma. Biasanya berlaku pada waktu malam dan memerlukan masa di antara 2-3 jam. Cacing tanah akan melekatkan bagian ventral tubuh (ujung anterior), kedua cacing mengarah ke arah yang berlainan supaya seminal reseptakel (spermateka) cacing bersatu dengan klitelum cacing pasangannya. Perlekatan kedua cacing ini dibantu oleh mukus dan seta. Kedua cacing akan merembeskan lendir di segmen-segmen 9 hingga 36. Proses penukaran sperma melalui sulkus seminal yang terletak di permukaan ventral, menuju ke bukaan seminal reseptakel (spermateka) cacing yang satu lagi, setelah itu cacing akan merembeskan struktur berbentuk 'tong' yang disebut kokon di klitelum. Ovum dari oviduktus dan albumin dari kelenjar kulit dimasukkan ke dalam kokon. Cacing mengkerut, ini agar kokon bergerak menuju ke bagian kepala. Saat kokon melintasi saluran reseptakel (segmen 9 dan

10), sperma dikeluarkan dan akan membuahi sel telur di dalam kokon. Kokon keluar dari bagian kepala cacing dan dalam 2-3 minggu, telur yang telah dibuahi akan menetas (Alpaci, 2008).

Kokon berbentuk lonjong dan berukuran sekitar 1/3 besar kepala korek api. Kokon ini diletakkan di tempat yang lembab. Dalam waktu 14-21 hari kokon akan menetas. Setiap kokon akan menghasilkan 2-20 ekor, rata-rata 4 ekor, dari 100 ekor cacing diperkirakan dapat menghasilkan 100.000 cacing dalam waktu 1 tahun. Cacing tanah mulai dewasa setelah berumur 2-3 bulan yang ditandai dengan adanya gelang (klitelum) pada tubuh bagian depan. Selama 7-10 hari setelah perkawinan cacing dewasa, akan dihasilkan 1 kokon (Prihatman, 2000).

Masa produktif cacing tanah akan berlangsung selama 4-10 bulan dan akan menurun hingga cacing mengalami kematian. Namun, siklus hidup cacing tanah ini masih perlu diteliti karena banyak faktor yang mempengaruhinya seperti kondisi lingkungan hidupnya (Palungkun, 2003).

#### **II.1.4 Habitat dan Syarat Tumbuh**

Cacing tanah hidup dalam liang dalam tanah yang lembab, subur dan suhunya tidak terlalu dingin. Pada siang hari, cacing tidak pernah keluar ke permukaan tanah, kecuali saat itu hujan. Cacing akan keluar terutama pagi hari sesudah hujan. Dalam keadaan normal cacing akan ke permukaan tanah pada malam hari. *Pheretima* hidup terrestrial di dalam tanah lembab yang tidak terlalu asam, tetapi mengandung materi organik (Oemarjati, 2000).

Menurut Rukmana (2003) cacing tanah dapat berkembang biak pada habitat alami dan habitat buatan manusia. Di habitat alami, cacing tanah hidup dan berkembang biak dalam tanah yang dipengaruhi oleh beberapa faktor:

#### 1. Suhu (Temperatur)

Suhu atau temperatur tanah yang ideal untuk pertumbuhan cacing tanah dan penetasan kokonnya berkisar  $15^{\circ}\text{C}$ - $25^{\circ}\text{C}$ . Suhu tanah yang lebih tinggi dari  $25^{\circ}\text{C}$  masih cocok untuk cacing tanah, tetapi harus diimbangi dengan kelembaban yang memadai dan naungan yang cukup. Oleh karena itu, cacing tanah biasanya ditemukan hidup di bawah pepohonan atau tumpukan bahan organik.

#### 2. Kelembaban

Kelembaban tanah ikut mempengaruhi pertumbuhan dan daya reproduksi cacing tanah. Kelembaban yang ideal untuk cacing tanah adalah antara 15%-50%, namun kelembaban optimalnya 42%-60%. Kelembaban tanah yang terlalu tinggi atau terlalu basah dapat menyebabkan cacing tanah berwarna pucat dan kemudian mati. Sebaliknya, bila kelembaban tanah terlalu kering, cacing tanah akan segera masuk ke dalam tanah dan berhenti makan hingga akhirnya mati.

#### 3. Keasaman Tanah (pH)

Cacing tanah tumbuh dan berkembang biak dengan baik pada tanah yang bereaksi sedikit asam sampai netral. Keasaman tanah (pH) yang ideal untuk cacing adalah pH 6-7,2.



#### 4. Ketersediaan Bahan Organik

Bahan organik umumnya mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral, sehingga merupakan pakan utama cacing tanah.

Bahan organik tanah dapat berupa kotoran ternak, serasah atau daun-daun yang gugur dan melapuk, tanaman atau hewan yang mati. Makin kaya kandungan bahan organik dalam tanah, makin banyak dihuni oleh mikroorganisme tanah, termasuk cacing tanah.

Habitat buatan adalah lingkungan yang dimodifikasi untuk budidaya cacing tanah. Pada prinsipnya cacing tanah dapat dibudidayakan dengan mudah apabila persyaratan hidupnya dipenuhi. Habitat buatan untuk budidaya cacing tanah dapat dilakukan dalam ruangan atau bangunan yang dilengkapi pelindung.

(Rukmana, 2003).

Persyaratan lokasi pada habitat buatan (Prihatman, 2000):

- 1) Tanah sebagai media hidup cacing harus mengandung bahan organik dalam jumlah yang besar.
- 2) Bahan-bahan organik tanah dapat berasal dari serasah (daun yang gugur), kotoran ternak atau tanaman dan hewan yang mati. Cacing tanah menyukai bahan-bahan yang mudah membusuk karena lebih mudah dicerna oleh tubuhnya.
- 3) Untuk pertumbuhan yang baik, cacing tanah memerlukan tanah yang sedikit asam sampai netral atau pH sekitar 6-7,2. Dengan kondisi ini, bakteri dalam tubuh cacing tanah dapat bekerja optimal untuk mengadakan pembusukan atau fermentasi.

- 4) Kelembaban yang optimal untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan cacing tanah adalah antara 15-30 %.
- 5) Suhu yang diperlukan untuk pertumbuhan cacing tanah dan penetasan kokon adalah sekitar 15–25 derajat C atau suam-suam kuku. Suhu yang lebih tinggi dari 25 derajat C masih baik asal ada naungan yang cukup dan kelembaban optimal.
- 6) Lokasi pemeliharaan cacing tanah diusahakan agar mudah penanganan dan pengawasannya serta tidak terkena sinar matahari secara langsung, misalnya di bawah pohon rindang, di tepi rumah atau di ruangan khusus (permanen) yang atapnya terbuat dari bahan-bahan yang tidak meneruskan sinar dan tidak menyimpan panas.

#### **II.1.5 Kandungan Kimia Cacing Tanah**

Di Amerika Serikat, Jepang, Kanada, Hongaria, dan Filipina, cacing dipakai sebagai bahan campuran biskuit dan minuman penyegar. Hewan ini juga digunakan sebagai obat seperti antipyrin, antipyretic, dan antidote. Sejumlah zat yang bermanfaat bagi manusia memang terkandung di dalamnya. Menurut Bambang Sudiarto, peneliti dari Lembaga Ekologi Universitas Padjajaran Bandung, cacing adalah sumber protein sangat tinggi, sekitar 76 persen. Itu berarti lebih tinggi dibanding daging yang hanya 65 persen, dan kacang kedelai yang hanya 45 persen (Cybernews, 2007).

Karsten dan Drake *dalam* Sayuthi (2000) menyatakan bahwa dalam ekstrak cacing tanah terdapat sejumlah enzim seperti lumbrokinase, peroksidase, katalase dan selulose. Kandungan zat-zat itulah yang menyebabkan cacing tanah mampu menghambat bakteri.

Dibandingkan dengan parasetamol, pemanfaatan ekstrak cacing tanah sebagai antipiretik lebih aman karena komponen kimia cacing tanah tidak menimbulkan efek toksik bagi manusia, sehingga aman dikonsumsi. Satu-satunya efek toksik cacing tanah adalah dapat mengakumulasi logam berat dalam tanah pada tubuhnya. Namun, hal ini dapat diatasi dengan vermikultur, yaitu membuat media tumbuh yang baik bagi cacing tanah (Sayuthi, 2000).

Berdasarkan hasil penelitian Arifiyanti (2006), cacing tanah yang diblender dan dicampur dengan aquadest mempunyai daya antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan cacing tanah dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena kandungan zat antibakteri yang terdapat pada cacing tanah. Kandungan tersebut yaitu protein yang sangat tinggi pada cacing tanah dan mikroba simbiotik *Streptomyces sp.* yang menghasilkan antibiotik streptomisin.

Serangkaian pengujian kimia menunjukkan adanya senyawa aktif sebagai antipiretik dari ekstrak cacing tanah merupakan golongan alkaloid. Pengujian memang belum dapat menentukan nama senyawanya. Golongan senyawa alkaloid memiliki ciri mengandung atom nitrogen dan bersifat basa ( $\text{pH} > 7$ ). Seperti umumnya senyawa aktif, jika dikonsumsi berlebihan, dapat menjadi racun. Golongan alkaloid memang sudah banyak ditemukan dari ekstrak tumbuhan maupun hewan dan sebagian besar memiliki efek farmakologis (Sayuthi, 2000).



### II.1.6 Klasifikasi Cacing Tanah *Pheretima sp* (Grzimek, 1974)

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Annelida
Class	: Clitellata
Ordo	: Oligochaeta
Familia	: Megascolecidae
Genus	: <i>Pheretima</i>
Spesies	: <i>Pheretima sp.</i>

### II.2 Kloroform

Dokter biasanya menggunakan obat pematil rasa (anestetik) untuk menghilangkan rasa sakit selama operasi. Salah satu anestetik yang sering digunakan adalah gas dinitrogen monoksida. Gas yang ditemukan Joseph Priestley ini disebut juga gas ketawa karena dapat menyebabkan orang yang menghirupnya tertawa terbahak-bahak. Pada mulanya, gas ketawa hanya digunakan sebagai alat untuk menghibur dalam suatu pertunjukan (Anonymous, 2007).

Revolusi penggunaan gas ketawa dari sekedar alat hiburan menjadi obat pematil rasa bermula dari peristiwa pada 10 Desember 1844. Pada tanggal tersebut, seorang dokter gigi bernama Horace Wells beserta istrinya sedang menonton pertunjukan gas ketawa. Colton sebagai pemandu acara meminta beberapa penonton untuk menghirup gas ketawa. Samuel Cooley, salah seorang yang ikut menghirup gas ketawa menunjukkan perilaku aneh. Cooley menjadi kasar, berkelahi hingga babak belur. Cooley terluka dan tubuhnya penuh dengan darah.

Meskipun demikian, Cooley tidak merasa sakit. Ia baru merasakan sakit setelah pengaruh gas ketawa habis (Anonimous, 2007).

Dinilai berbahaya, penggunaan gas ketawa yang terbuat dari gas nitrogen monoksida ( $N_2O$ ) dikurangi, sehingga ditemukan penggantinya berupa eter dan kloroform. Kloroform merupakan salah satu bahan penunjang bagi dunia kedokteran, yaitu sebagai obat bius. Pada jaman sekarang ini kloroform hanya dapat digunakan sebagai obat bius untuk hewan (Hutomo, 2007).

Kloroform adalah nama umum untuk triklorometana ( $CHCl_3$ ). Kloroform lebih dikenal sebagai bahan pembius, meskipun kebanyakan digunakan sebagai pelarut non polar yang dapat menarik senyawa-senyawa organik yang bersifat non polar dari tumbuhan maupun hewan dalam skala laboratorium bahkan industri. Wujudnya pada suhu ruang berupa cairan, namun kloroform ini mudah menguap (Wikipedia, 2008).

Kloroform sebagai pelarut, lebih bersifat spesifik daripada metanol yang merupakan turunan alkohol. Metanol digunakan secara umum sebagai pelarut untuk penarik protein saja, sedangkan kloroform lebih ke metabolit sekunder dari makhluk hidup yang diekstrak (Wikipedia, 2008).

### **II.3 Bakteri Uji**

Enterobacteriaceae biasa dikenal dengan nama kuman enterik, bakteri gram negatif enterik. Bakteri ini tidak hanya ditemukan di tractus gastrointestinalis. Sifat-sifatnya yaitu berbentuk batang, tak berspora, fakultatif anaerob, memfermentasi glukosa, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan uji oksidase (cytochrome oxidase) (-) (Elib, 2009).

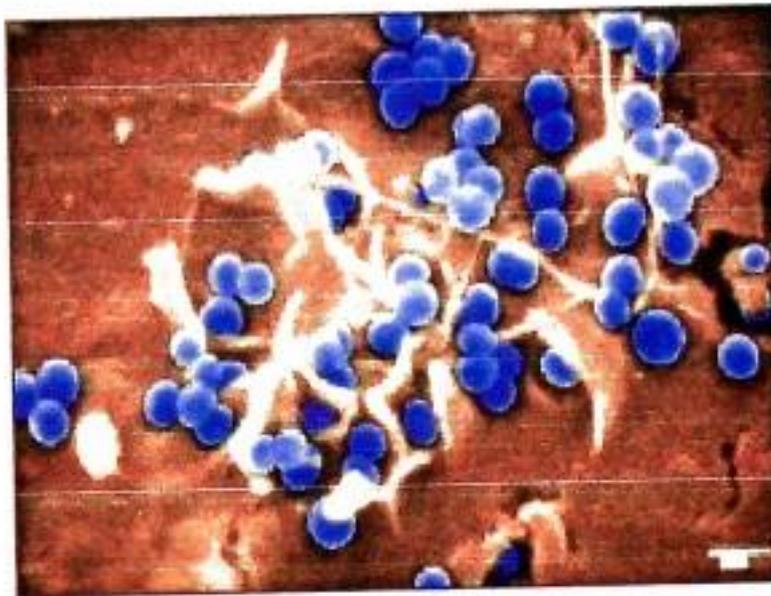
Enterobacter adalah kelompok bakteri yang biasa berada dalam usus manusia, hewan (entero = usus ) ataupun di sampah organik yang membusuk. Selama berada di dalam usus, bakteri ini umumnya tidak membahayakan, tetapi jika ada kesempatan memasuki organ tubuh yang lain, seperti otak, maka bisa menimbulkan gangguan serius seperti peradangan selaput otak (Nugrahalia, 2008).

### II.3.1 *Staphylococcus aureus*

#### II.3.1.1 Klasifikasi (Garrity, 2002)

Kingdom	: Procaryotae
Phylum	: Protobacteria
Class	: Protophyta
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

### II.3.1.2 Sifat dan morfologi



Gambar 3. Morfologi *Staphylococcus aureus*  
(<http://www.biotechnologie.de/BIO/Redaktion/Bilder/de/Newsfotos/staphylococcus-aureus,property=bild,bereich=bio,sprache=de,width=286,height=204.jpg>)

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter 1  $\mu\text{m}$ , biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur, bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. Habitatnya pada kulit dan alat pernafasan manusia (Brooks, 2005).

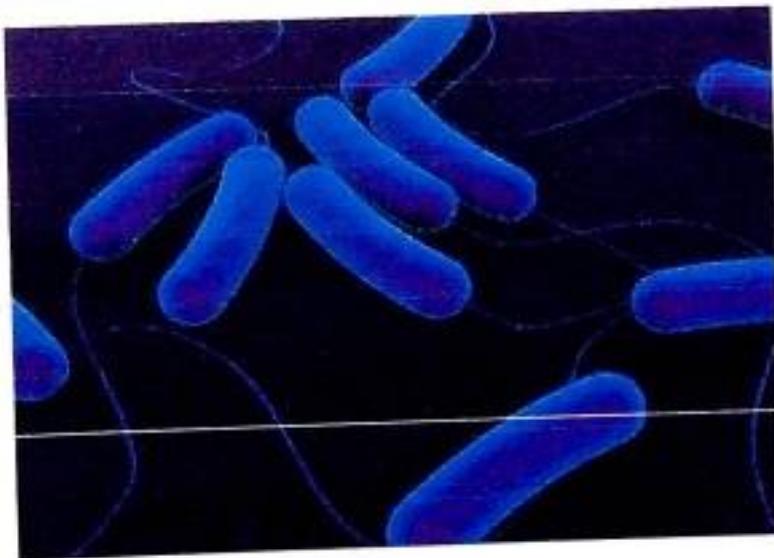
Infeksi bakteri ini menimbulkan berbagai gangguan kesehatan berupa keracunan makanan, gastroenteritis akut, radang paru-paru, hati dan ginjal. Bakteri ini kebanyakan terdapat pada makanan yang sudah dimasak. Hal ini karena bakteri ini hidup bebas di udara. Kebanyakan bersifat patogen dan memproduksi enterotoksin yang tahan panas. Bakteri ini juga menyebabkan pneumonia, endokarditis pada organ (Stehulak, 1998; Fardiaz, 1992).

## II.3.2 *Escherichia coli*

### II.3.2.1 Klasifikasi (Garrity, 2002)

Kingdom	: Procaryotae
Phylum	: Proteobacteria
Classis	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

### II.3.2.2 Sifat dan morfologi



Gambar 4. Morfologi *Escherichia coli*  
(<http://www.washingtoninjuryattorneyblog.com/e-coli.jpg>)

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, uji indole positif dan mampu memfermentasi berbagai karbohidrat seperti glukosa, laktosa, manitol dan arabinosa (Suwandi, 1999).



*Escherichia coli* biasanya hidup di dalam usus dan membantu tubuh mencerna makanan, tetapi jika masuk ke dalam saluran pencernaan dalam jumlah banyak dapat membahayakan kesehatan. Menurut Pelczar & Chan (1988) walaupun *Escherichia coli* merupakan bagian dari mikroba normal saluran pencernaan, tapi saat ini telah terbukti bahwa galur-galur tertentu mampu menyebabkan gastroenteritis taraf sedang hingga parah pada manusia dan hewan.

World Health Organization dalam Feliatra (2002) *Escherichia coli* umumnya terdapat di dalam saluran pencernaan dan tersebar pada semua individu. Pengujian mikrobiologi dengan hasil mikroorganisme tersebut merupakan indikator adanya mikroorganisme patogen dan pencemaran pada suatu ekosistem (1982). Dari jumlah bakteri *Escherichia coli* didapat, kondisi suatu perairan yang tercemar dapat diketahui karena bakteri tersebut merupakan indikator pencemaran.

### II.3.3 *Salmonella typhi*

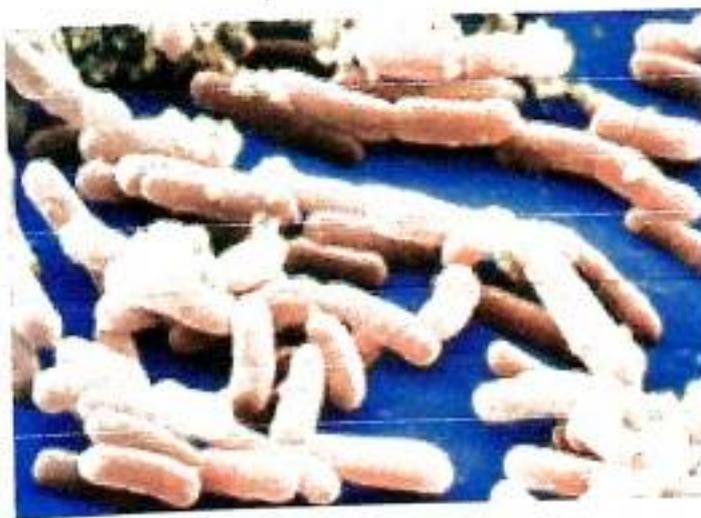
#### II.3.3.1 Klasifikasi (Garrity, 2002)

Kingdom : Procaryotae  
Phylum : Proteobacteria  
Classis : Gammaproteobacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Familia : Enterobacteriaceae  
Genus : *Salmonella*  
Species : *Salmonella typhi*

### 1.3.3.2 Sifat dan Morfologi

Bakteri *Salmonella* berbentuk batang pendek, gram negatif, anaerob/fakultatif, tidak berspora, bergerak dengan flagella *peritrichous*, tidak memfermentasi adonitol dan sukrosa, tidak membentuk indol, tidak merubah urea maupun acetil-methyl carbinol. Beberapa serotipe dari *Salmonella* kadang-kadang sifatnya berubah menjadi bakteri yang tidak bergerak (*atrichous*) (Chotiah & Ariyanti, 2002).

*Salmonella typhi* merupakan gram negatif, berbentuk batang dengan tipe flagella peritrik, hidup secara fakultatif anaerob serta dapat melakukan fermentasi terhadap laktosa. Bakteri ini bersifat sangat patogen bagi manusia dan hewan. Ukuran sel 1-3  $\mu\text{m}$ , dalam bentuk tunggal atau berpasangan, kadang-kadang membentuk rantai yang pendek. Suhu pertumbuhan optimum 37°C, pada suhu 55°C akan mati dalam waktu 1 jam dan pada suhu 60°C akan mati dalam waktu 20 menit. Koloninya secara normal dapat dijumpai dalam darah dan tinja (Lay, 1994).



Gambar 5. Morfologi *Salmonella typhi*  
(<http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Salmonellatyphi/SyphiImage2.jpg>)

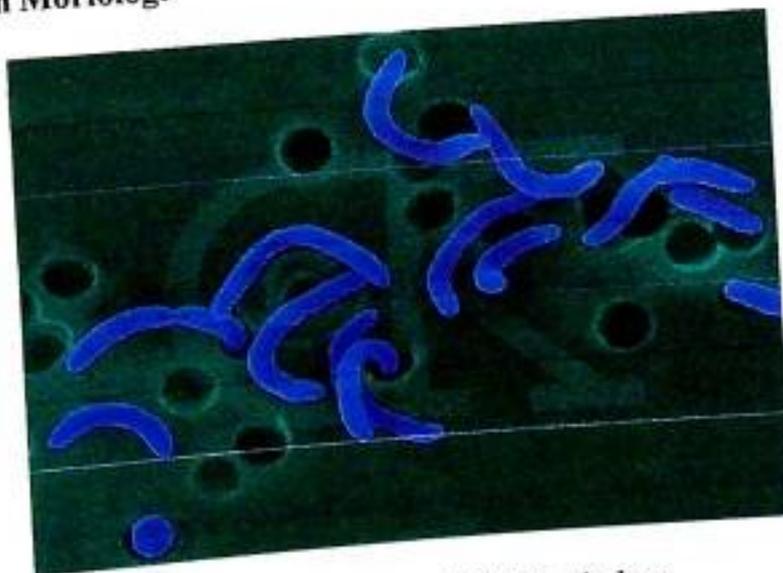
Demam tifoid adalah penyakit menular yang akut disebabkan oleh *Salmonella typhi*. Setelah memasuki saluran gastrointestinal, *S. typhi* dengan cepat memasuki situs-situs intraseluler. *S. typhi* juga dapat memasuki berbagai jaringan dan organ melalui aliran darah (Pelczar & Chan, 1998).

### II.3.4 *Vibrio cholerae*

#### II.3.4.1 Klasifikasi (Garrity, 2002)

Kingdom : Procaryotae  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gammaproteobacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Family : Vibrionaceae  
Genus : *Vibrio*  
Species : *Vibrio cholera*

#### II.3.4.2 Sifat dan Morfologi



Gambar 6. Morfologi *Vibrio cholera*  
(<http://202.114.65.51/fzjx/wsw/newindex/tuku/MYPER/zxj/zxjimage/96525a.jpg>)

Bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerobik, fermentatif, bentuk sel batang dengan ukuran panjang antara 2-3  $\mu\text{m}$ , menghasilkan katalase dan oksidase dan bergerak dengan satu flagella pada ujung sel. *Vibrio* merupakan patogen oportunistik yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan, kemudian berkembang dari sifat yang saprofitik menjadi patogenik jika kondisi lingkungannya memungkinkan (Feliatra, 1999).

Kolera adalah suatu penyakit akut yang disebabkan oleh enterotoksin yang dihasilkan oleh *Vibrio cholerae* yang membentuk koloni di dalam usus kecil. Gejalanya meliputi muntah berak dalam jumlah banyak yang mengakibatkan dehidrasi (kekeringan), kehilangan eretrolit, bahkan kematian (Pelczar & Chan, 1998).

## **II.4 Ekstraksi**

### **II.4.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat dan hewan. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu untuk mengeluarkan zat tersebut dari dalam sel (Tobo, dkk., 2001).

### **II.4.2 Tujuan ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Dinda, 2008).

### II.4.3 Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh cairan penyari, sehingga dihasilkan larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Proses tersarinya zat aktif tersebut melalui mekanisme dimana pelarut organik menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, yang akan larut dalam pelarut organik tersebut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel, maka larutan pekat akan berdifusi ke luar sel dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam sel dan di luar sel (Ditjen POM, 1986).

### II.4.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu (Tobo, dkk., 2001):

#### a. Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia di dalam bejana tertutup, dituang dengan 75 bagian cairan penyari, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Kemudian disaring ke dalam wadah penampung lalu ampas diperas dan ditambahkan lagi hingga diperoleh 100 bagian. Kemudian dipindahkan ke dalam bejana tertutup dan dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari (Ditjen POM, 1986).

Penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada



temperatur kamar terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah. Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan (Dinda, 2008).

Keuntungan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugiannya ialah cara pengerjaan yang lama dan kurang sempurna (Tobo, dkk., 2001).

b. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara simplicia dengan air pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang (Tobo, dkk., 2001).

c. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang di bagian

bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Tobo, dkk., 2001).

d. Penyaringan berkesinambungan

Penyaringan berkesinambungan adalah proses penyarian yang menggabungkan proses yang menghasilkan proses yang menghasilkan ekstrak cair dan proses penguapan seperti proses penyarian yang biasa dilakukan (Tobo, dkk., 2001).

e. Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair (corong pisah) merupakan pemisahan komponen kimia di antara 2 fase pelarut yang tidak saling bercampur di mana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua, lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair, dan komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Dinda, 2008).

## **II.5 Antimikroba**

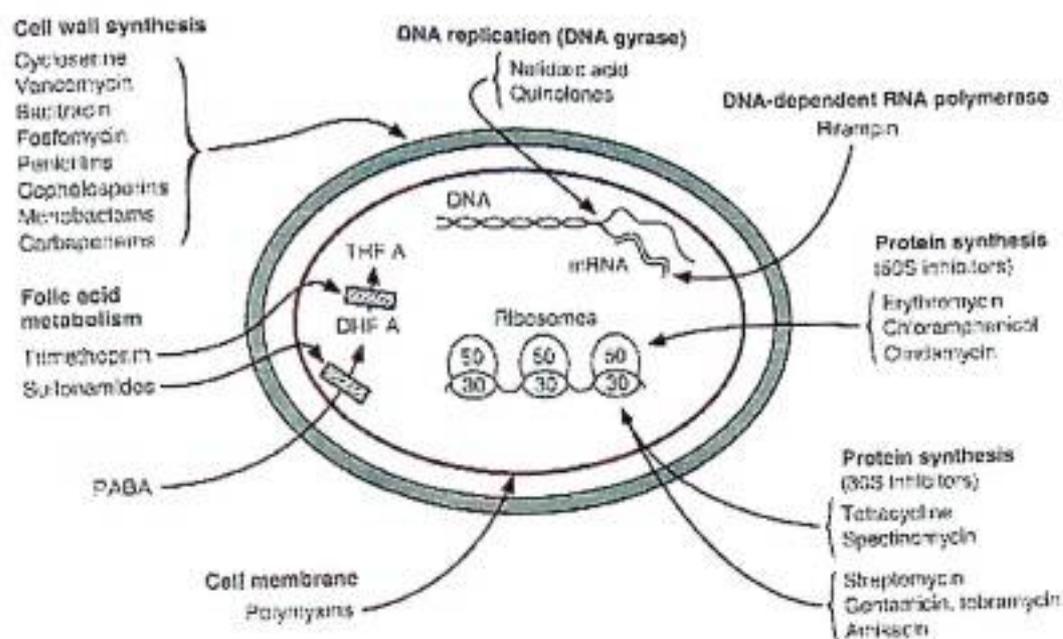
### **II.5.1 Sifat dan Pembagian Antimikroba**

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotika, antiseptika, kemoterapeutika, dan pengawet. Obat-obat yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan

ataupun tumbuhan, harus bersifat sangat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad dengan inang atau hospes (Djide, 2005).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik; dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai bakteriosida. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara, 1995).

Sifat antimikroba yang diinginkan antara lain sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Antimikroba tersebut seharusnya memiliki spektrum yang luas dan tidak cepat menimbulkan resistensi. Efektivitas antimikroba hendaknya tidak berkurang dengan adanya cairan tubuh, protein plasma dan enzim jaringan. Sifat adsorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi (ADME) harus sedemikian rupa kadarnya dalam darah dapat dicapai dengan cepat dan dapat diperahankan dalam jangka waktu lama. Antimikroba yang diekskresi dalam ginjal tidak menyebabkan kerusakan ginjal (Setiabudy, 1995 dan Mycek, 2001).



Gambar 7. Mekanisme beberapa Aksi Agen Antimikroba (<http://microblog.me.uk/143>)

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok, yaitu (Ganiswara, 1995 dan Katzung, 2004) :

### 1. Antimikroba yang menghambat sintesis protein

Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein untuk kehidupannya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan m-RNA dan t-RNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30 S dan 50 S.

Antimikroba ini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan terhambatnya sintesis dengan cara:

- a) Zat antimikroba berikatan dengan ribosom 30 S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam

menerjemahkan tanda m-RNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal.

Contoh obat: Streptomycin dan Tetrasiklin.

- b) Zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50 S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contoh obat: Aminoglikosida, Kloramfenikol, Eritromycin, dan Linkomicyn.

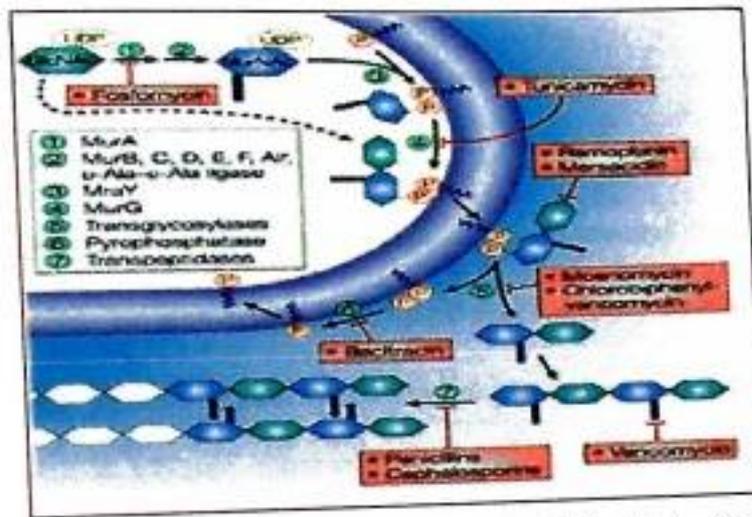
## 2. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam para benzoat (PABA) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam yang non fungsional, yang mengakibatkan kehidupan mikroba akan terganggu. Contoh obat: sulfonamida, trimetoprim, asam p-aminosalsilat (PAS) dan sulfon.

## 3. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat reaksi pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai dibentuk.

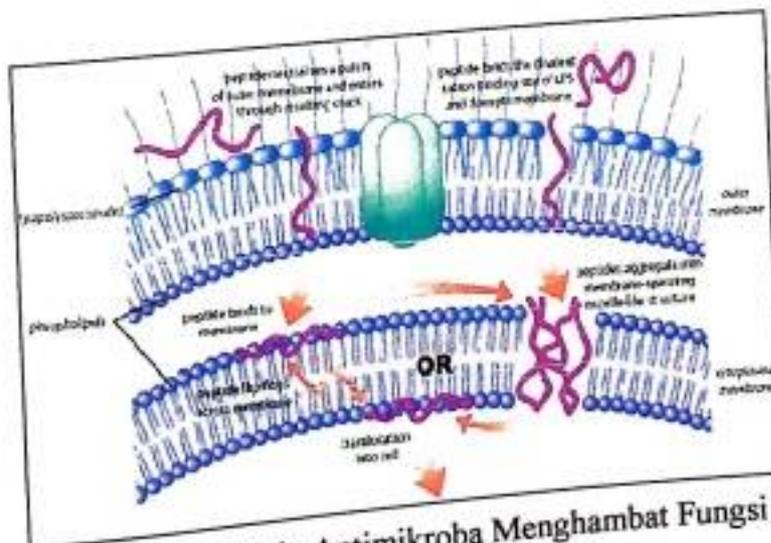
Antimikroba ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase sehingga dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis. Contoh obat: basitrasin, sefalosporin, siklosporin, sikloserin, penisilin, dan vankomisin.



Gambar 8. Penghambatan Sintesis Dinding Sel oleh Antibiotik  
([www.nature.com/nrmicro/journal](http://www.nature.com/nrmicro/journal))

#### 4. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

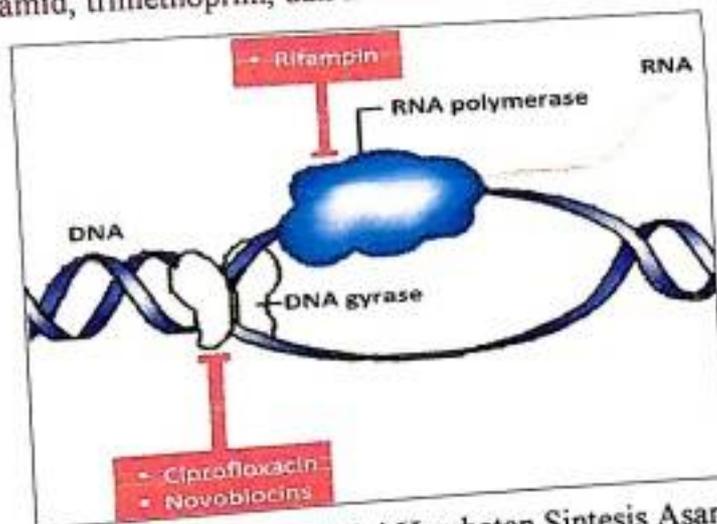
Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran sel memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, akibatnya mikroba akan mati. Contoh obat: amfoterisin B, Nistatin, dan kolistin.



Gambar 9. Mekanisme Kerja Antimikroba Menghambat Fungsi Membran Sel  
(Wilcox, 2006)

## 5. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel, selain itu jika terdapat senyawa antimikroba, akan mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan dengan enzim DNA dependen RNA polymerase bakteri, memblokir helix DNA. Contoh obat: quinolon, pyrimethamin, rifampin, sulfonamid, trimethoprim, dan trimetrexat.



Gambar 10. Aksi Antibiotik Melalui Hambatan Sintesis Asam Nukleat  
(<http://www.nature.com>)

### II.5.2 Metode Pengujian Antimikroba

Dikenal beberapa cara pemeriksaan dan pengujian secara mikrobiologi terhadap ketahanan mikroba dari bahan-bahan kemoterapeutika seperti antibiotika. Pengujian aktivitas mikroba dapat dilakukan secara in vitro maupun secara in vivo. Pengukuran aktivitas antimikroba secara in vitro dilakukan untuk menentukan potensi agen antimikroba dalam larutan, konsentrasinya dalam tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme terhadap obat yang diketahui. Secara

umum pengujian antimikroba secara in vitro dapat dilakukan dengan dua cara yaitu (Brooks, 2005 dan Lay, 1994) :

### 1. Metode difusi (penyerapan)

Pada metode ini kemampuan antimikroba ditentukan berdasarkan hambatan yang terjadi. Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Beberapa modifikasi metode ini adalah:

#### a. Metode difusi dengan silinder pipih

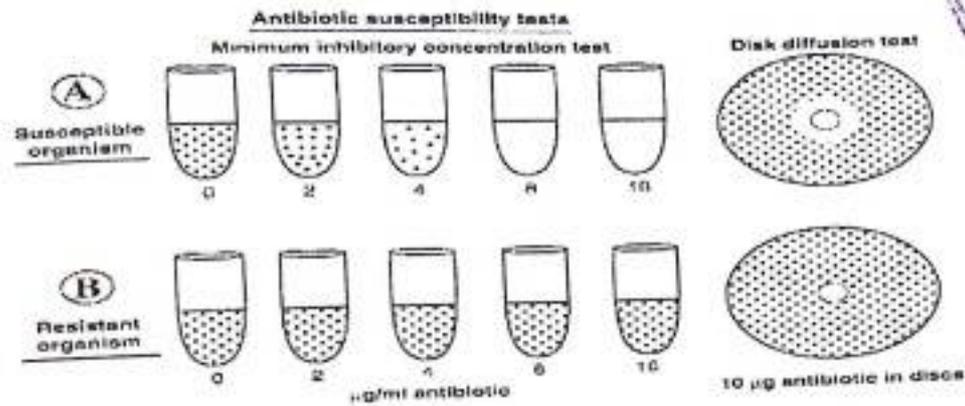
Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang dibentuk larutan pembanding. Pada cara ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalamnya. Silinder yang digunakan adalah besi tahan karat atau porselin dengan toleransi ukuran masing-masing lebih kurang 0,1 mm, diameter luar 8 mm, diameter dalam 6 mm dan tinggi 10 mm.

#### b. Metode difusi mangkuk pipih

Prinsip kerjanya sama dengan plat silinder. Perbedaan disini adalah menggunakan alat berupa 'cup plate' yaitu lubang atau semacam mangkuk yang diletakkan langsung pada medium.

#### c. Metode difusi dengan kertas saring atau Kirby-Bauer

Uji ini diperkenalkan oleh **William Kirby** dan **Alfred Bauer** tahun 1966. Cara ini menggunakan kertas saring dengan garis tengah 0,7- 1 cm, yang nantinya dicelupkan ke dalam larutan pembanding. Penghambatan pertumbuhan mikroba terlihat sebagai wilayah jernih di sekitar pertumbuhan mikroba.



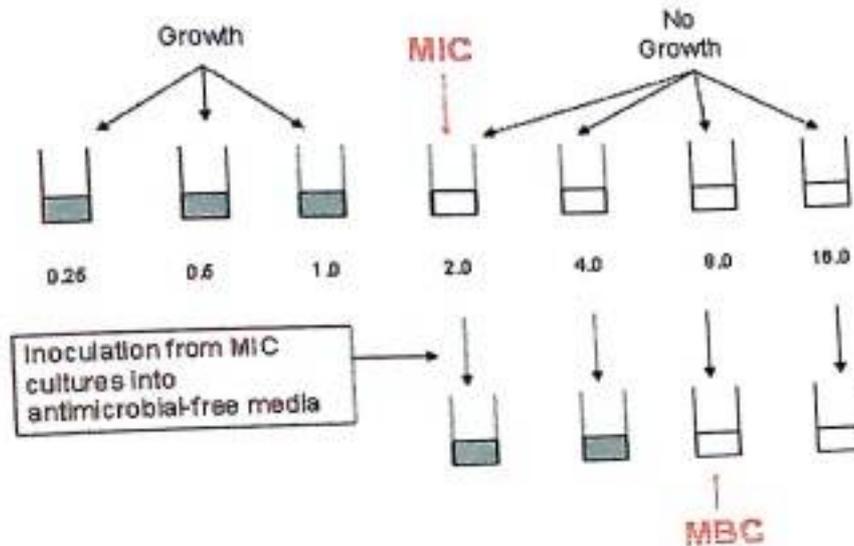
Gambar 11. Metode Difusi dengan Kertas Saring atau Kirby-Bauer (Washington, 2009)

## 2. Metode dilusi (pengenceran)

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasikan bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir antimikroba dilarutkan dengan kadar yang menghambat atau mematikan.

Uji kepekaan cara dilusi-agar memakan banyak waktu dan penggunaannya terbatas pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai; namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yaitu dengan menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh mikroba.

## Serial Dilution Susceptibility Testing



Gambar 12. Metode Dilusi  
(<http://www.ohioline.osu.edu/html>)

### II.5.3 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Beberapa faktor yang sangat berpengaruh dalam pengujian aktivitas antimikroba secara *in vitro*, yaitu (Brooks, 2005):

#### 1. pH Lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (nitrofurantoin); dan adapula obat yang lebih aktif pada pH yang basa (aminoglikosida dan sulfonamid).

#### 2. Komponen Media

Natrium polianetosulfonat dan detergen anion lainnya menghambat aminoglikosida. Ikatan protein serum penisilin, berkisar dari 40% untuk metisilin hingga 98% untuk dikloksasilin. Penambahan NaCl kedalam medium meningkatkan deteksi resistensi metisilin pada *Staphylococcus aureus*.

### **3. Stabilitas obat**

Pada temperatur inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitasnya. Klortetrasiklin inaktif dengan cepat dan penisilin lebih lambat, dimana aminoglikosida, kloramfenikol dan siprofloksasin cukup stabil untuk periode yang panjang.

### **4. Ukuran Inokulum**

Umumnya makin besar inokulum bakteri, makin kurang tingkat kepekaan mikroorganisme. Populasi bakteri yang besar lebih sulit dihambata dibanding populasi yang lebih kecil. Sebagai tambahan, muatan resisten lebih sering muncul pada populasi yang lebih besar.

### **5. Waktu Inkubasi**

Beberapa contoh mikroorganisme tidak dimatikan tapi hanya dihambat pada pemaparan singkat terhadap antimikroba. Inkubasi yang lebih lama terus menerus, memberi kesempatan yang lebih besar bagi mutan resisten untuk tumbuh dan membentuk populasi yang resisten. Perbanyakkan bakteri resisten semakin meningkat, bersama semakin menurunnya aktivitas antimikroba selama inkubasi.

### **6. Aktivitas Metabolik Mikroorganisme**

Umumnya organisme yang tumbuh dengan cepat dan aktif lebih peka terhadap efek obat dibanding organisme yang berada pada fase istirahat. Organisme inaktif yang secara metabolik tahan hidup pada pemaparan obat yang lama, kemungkinan mempunyai keturunan yang sepenuhnya resisten terhadap obat yang sama.

#### II.5.4 Antimikroba Asal Cacing Tanah

Ju Hyun dkk. (1998) berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi peptide antimikroba dari cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan disebut **Lumbricin I**. Lumbricin I merupakan peptida antimikroba yang mengandung asam amino prolin 15 % dari total berat kering sampel (Waluyo, 2006).

Milochau dkk. (1997) juga telah mengisolasi dan mengkarakterisasi protein antibakteri dari cairan *coelomic* cacing tanah *Eisenia foetida* Andrei yang mempunyai aktivitas antibakteri dan diberi nama **Fetidin** dengan berat molekul 40,0 kDa dan 45,0 kDa (Waluyo, 2006).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **III.1 Alat**

Batang pengaduk, cawan petri, gelas kimia, gelas ukur (Iwaki pyrex), inkubator, spektrofotometer, jangka sorong, lampu spirtus, erlenmeyer (Iwaki pyrex), laminar air flow (laf), pipet tetes, autoklaf, tabung reaksi, rak tabung, corong buchner, ose bulat, rotavapor, toples, neraca (O'hauss) dan oven.

#### **III.2 Bahan**

Cacing tanah lokal *Pheretima sp.* dewasa, alkohol 70%, metanol, NaCl fisiologis, aluminium foil, kloroform, dimetil sulfoksida (DMSO), kapas, Mueller Hinton Agar (MHA), Nutrient Agar (NA), *paper disc*, kertas saring dan air suling.

#### **III.3 Cara Kerja**

##### **III.3.1 Penyiapan Sampel Penelitian**

##### **III.3.1.1 Pengambilan Sampel Cacing**

Sampel cacing tanah *Pheretima sp.* diperoleh dari Rumah Tempat Pemotongan Hewan (RTPH) di Gowa. Cacing yang telah dikumpulkan, dicuci dan dibelah untuk mengeluarkan kotoran dalam tubuhnya. Cacing yang telah bersih dikeringanginkan dengan menggunakan nampan yang sebelumnya telah dilapisi aluminium foil. Setelah kering, cacing dipotong-potong dan diblender untuk memperoleh tepung cacing.

### **III.3.1.2 Pembuatan Ekstrak Kloroform Cacing Tanah *Pheretima sp.* secara Maserasi**

Tepung cacing tanah *Pheretima sp.* sebanyak 250 g dimaserasi dengan metanol sebanyak tiga kali (3 x 250 ml) kemudian ekstrak yang diperoleh dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol kemudian diekstraksi cair-cair dengan kloroform sehingga diperoleh ekstrak kloroform. Ekstrak kloroform yang diperoleh kemudian dievaporasi dan ditimbang, lalu disuspensi pada berbagai konsentrasi dalam larutan DMSO kemudian diuji aktivitas antibakterinya.

### **III.3.1.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Kloroform Cacing Tanah *Pheretima sp.***

Suspensi ekstrak kloroform cacing tanah yang akan dibuat masing-masing dengan konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7%, 10% b/v. Cara membuat masing-masing konsentrasi tersebut, yaitu dengan menimbang ekstrak kloroform kental cacing masing-masing 0,01 g, 0,03 g, 0,05 g, 0,07 g, dan 0,10 g kemudian dimasukkan ke dalam botol balsem lalu ditambahkan 1 ml DMSO.

### **III.3.2 Sterilisasi Alat**

Semua alat yang digunakan dicuci, dikeringanginkan dan disterilkan agar bebas mikroorganisme. Alat-alat dari bahan gelas disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat non gelas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat-alat logam seperti ose dan pinset disterilkan dengan alkohol lalu dibakar di atas nyala api bunsen hingga pijar.

### **III.3.3 Pembuatan dan Sterilisasi Medium**

#### **III.3.3.1 Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)**

Nutrient Agar (NA) digunakan untuk peremajaan bakteri. Pembuatannya dengan cara melarutkan Nutrient Agar sintetik sebanyak 23 g ke dalam aquadest 1000 mL, lalu dipanaskan dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama  $\pm$  15 menit.

#### **III.3.3.2 Pembuatan Medium Mueller Hinton Agar (MHA)**

MHA sintetik ditimbang sebanyak 38 g kemudian dimasukkan ke dalam aquadest 1000 mL, lalu diaduk sambil dipanaskan dan dibiarkan mendidih selama  $\pm$  1 menit. Setelah larut, medium kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama  $\pm$  15 menit.

### **III.3.4 Penyiapan Mikroba Uji**

#### **III.3.4.1 Peremajaan Kultur Murni Mikroba Uji**

Masing-masing diambil sebanyak satu ose mikroba uji, yaitu *Salmonella thypii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio cholerae* diinokulasikan dengan cara digoreskan pada media cawan lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### **III.3.4.2 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji**

Mikroba uji hasil peremajaan, disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur transmisinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada transmittan 25%.

### III.3.5 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol positif digunakan antibiotik kloramfenikol dengan konsentrasi 30 ppm. Dibuat dengan cara melarutkan 0,03 g kloramfenikol dalam 100 ml aquadest. Setelah larut, dipipet sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan aquadest hingga volume mencapai 10 ml. Larutan kontrol negatif digunakan DMSO (Dimetil sulfoksida).

### III.3.6 Pengujian Ekstrak Cacing Tanah

Pengujian aktivitas antimikroba yang digunakan adalah metode difusi dengan kertas saring atau Kirby-Bauer.

Medium MHA yang telah disterilkan, didinginkan pada suhu 40-50°C, lalu dituang ke dalam cawan petri secara aseptis. Setelah memadat, digoreskan suspensi bakteri pada permukaan media. Kemudian, diletakkan *paper disc* yang telah dicelupkan ke dalam ekstrak kloroform dari cacing tanah *Pheretima sp.* dengan konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 10% b/v yang dilarutkan dengan DMSO. Setelah itu, diletakkan juga *paper disc* yang telah dicelupkan ke dalam larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan larutan DMSO sebagai kontrol negatif. Cawan petri diberi label, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati dan diukur daerah hambatannya. Inkubasi dilanjutkan untuk pengamatan setelah 48 jam kemudian diukur daerah hambatannya.

### III.3.7 Pengamatan Zona Hambatan

Pengamatan zona hambatan dilakukan dengan memperhatikan daerah bening di sekitar *paper disc*. Zona hambatan tersebut kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong. Mula-mula jangka sorong diletakkan pada permukaan tutup cawan petri, tepat di atas zona hambatan yang akan diukur. Posisi paruh jangka sorong

(rahang tetap dan rahang sorong) terletak selurusan dengan zona hambatan yang akan diukur. Kemudian geser rahang sorong sesuai dengan besarnya diameter zona hambatan yang terlihat. Lalu baca skala utama dan skala nonius pada jangka sorong untuk menentukan besarnya diameter zona hambatan dalam satuan milimeter (mm).

#### **III.4 Analisis Data**

Hasil pengukuran zona hambat ditabulasi dan dibandingkan antara inkubasi pada 24 jam dengan masa inkubasi 48 jam, untuk diketahui pada konsentrasi berapa dan jenis bakteri mana yang diperoleh zona hambatan terbesar. Selanjutnya dapat diketahui efektivitas dari ekstrak yang diperoleh dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yang digunakan. Kemudian akan diketahui kemampuan ekstrak tersebut sebagai bakteriostatik atau bakteriosida.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Pengujian Aktivitas Antimikroba

Hasil uji aktivitas antimikroba dari berbagai konsentrasi ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* (1%, 3%, 5%, 7%, dan 10%) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* setelah 24 jam dan 48 jam diperoleh hasil seperti tercantum pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1: Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan dari Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp.* pada beberapa Bakteri Uji setelah Masa Inkubasi 24 jam dan 48 jam

Konsentrasi Ekstrak	Diameter Zona Hambatan (mm) pada beberapa Jenis Bakteri Uji							
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella typhi</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Vibrio cholerae</i>	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
1 %	10,20	10,13	9,00	8,05	9,80	9,02	8,95	8,85
3 %	11,45	11,05	9,21	9,05	11,58	10,25	9,70	8,70
5 %	18,28	17,68	9,40	9,15	12,21	11,20	10,00	9,03
7 %	20,44	19,36	9,75	9,20	15,15	15,11	10,40	9,15
10 %	23,23	22,05	10,00	9,62	16,91	16,80	10,45	9,46
K (+)	26,15	26,05	12,65	12,35	18,43	17,23	22,85	22,65
K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00

Keterangan :

K (+) : Kontrol + menggunakan Kloramfenikol 30 ppm

K (-) : Kontrol - menggunakan larutan DMSO (Dimetil sulfoksida)

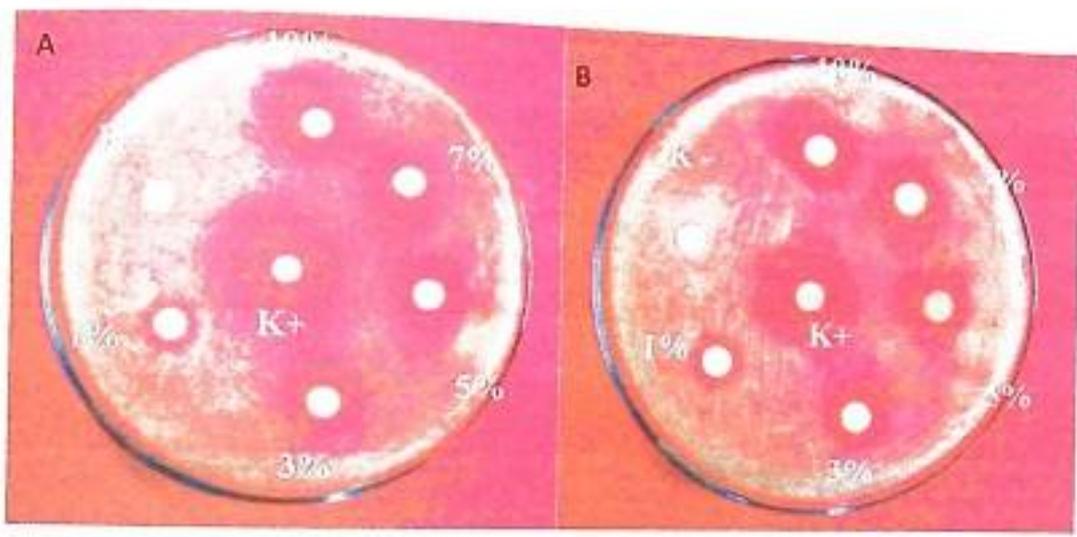
Diameter tertera termasuk *paper disc* : 6 mm

#### IV.2 Pembahasan

Hasil uji aktivitas antimikroba sampel cacing tanah *Pheretima sp.* menunjukkan bahwa sampel uji dengan konsentrasi berbeda memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri uji, diantaranya *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio cholerae*.



Diameter zona hambatan yang terbentuk dari ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Escherichia coli* setelah masa inkubasi 24 dan 48 jam dapat dilihat pada Gambar 13.

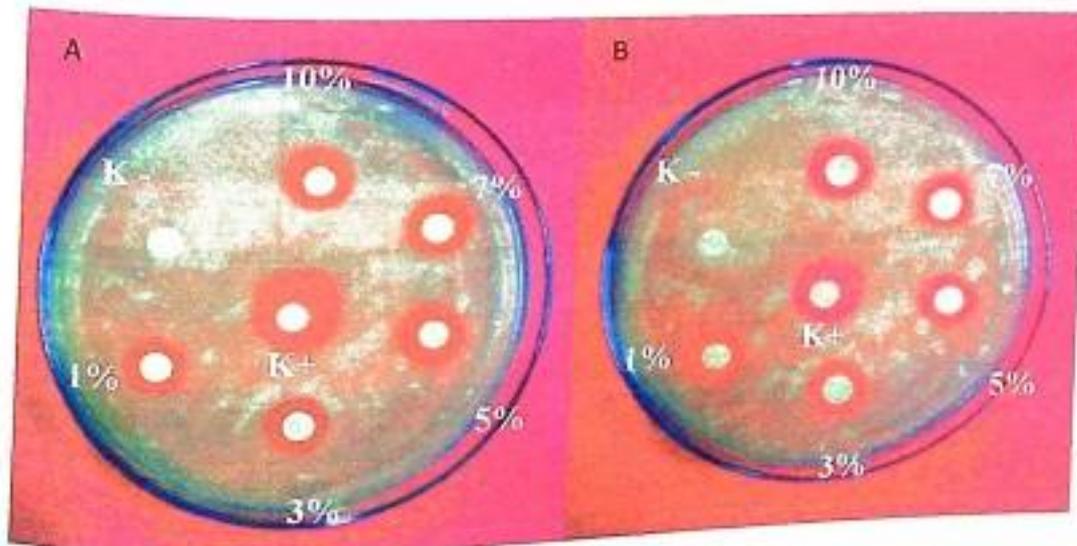


Gambar 13. Foto Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp.* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* setelah Masa Inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam

Pengukuran rata-rata diameter zona hambatan dari hasil ekstraksi cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Escherichia coli*, menunjukkan diameter terbesar pada konsentrasi 10% dengan masa inkubasi 24 jam yaitu 23,23 mm disusul oleh konsentrasi 7%, 5%, 3% dan 1% berturut-turut sebesar 20,44 mm, 18,28 mm, 11,45 mm, dan 10,20 mm. Dibandingkan dengan kontrol positif yaitu 26,15 mm, konsentrasi 10 % (23,23 mm) dapat dikatakan cukup efektif untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, sedangkan konsentrasi 7%, 5%, 3%, dan 1% dinilai kurang efektif.

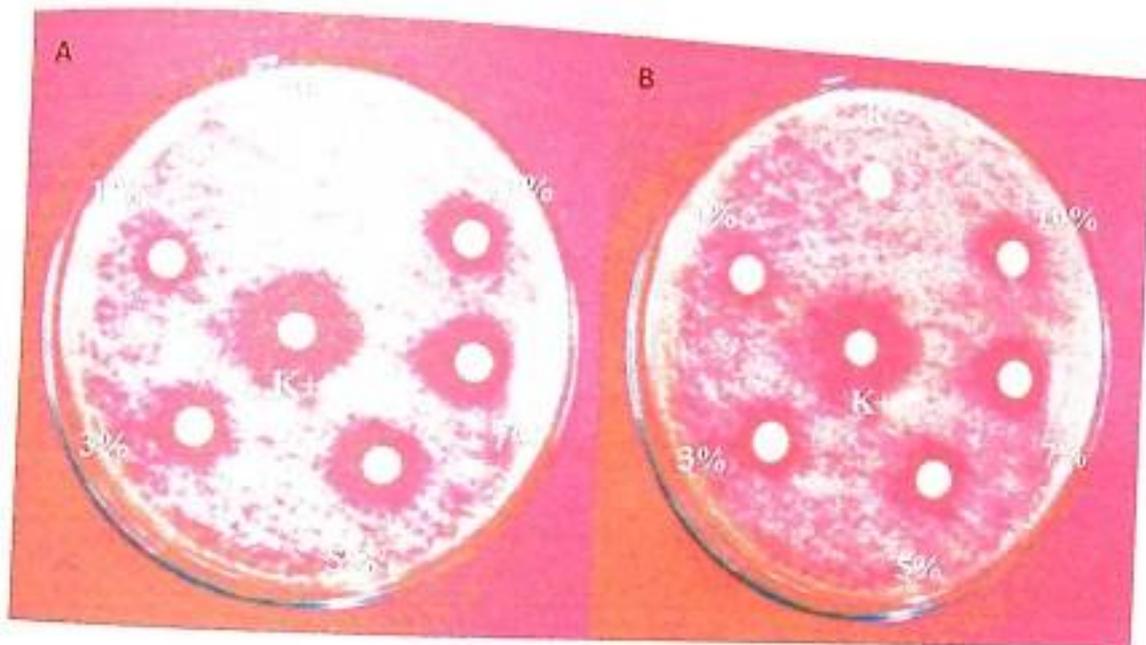
Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan dari hasil ekstraksi cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Salmonella typhi* menunjukkan diameter terbesar pada konsentrasi 10% dengan masa inkubasi 24 jam yaitu 10,00 mm disusul oleh konsentrasi 7%, 5%, 3% dan 1% berturut-turut sebesar 9,75 mm, 9,40 mm, 9,21 mm, dan 9,00 mm. Dibandingkan dengan kontrol positif yaitu 12,65 mm, rata-rata hasil uji antibakteri dari semua konsentrasi dianggap kurang efektif atau dikategorikan sedang. Sebagaimana pernyataan Davis and Stout (1971) dalam Ambarwati (2007) bila diameter zona hambatan 5 mm atau kurang maka aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat, dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Diameter zona hambatan yang terbentuk dari ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Salmonella typhi* setelah masa inkubasi 24 dan 48 jam dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Foto Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp.* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* setelah Masa Inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam

Diameter zona hambatan yang terbentuk dari ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 dan 48 jam dapat dilihat pada Gambar 15.

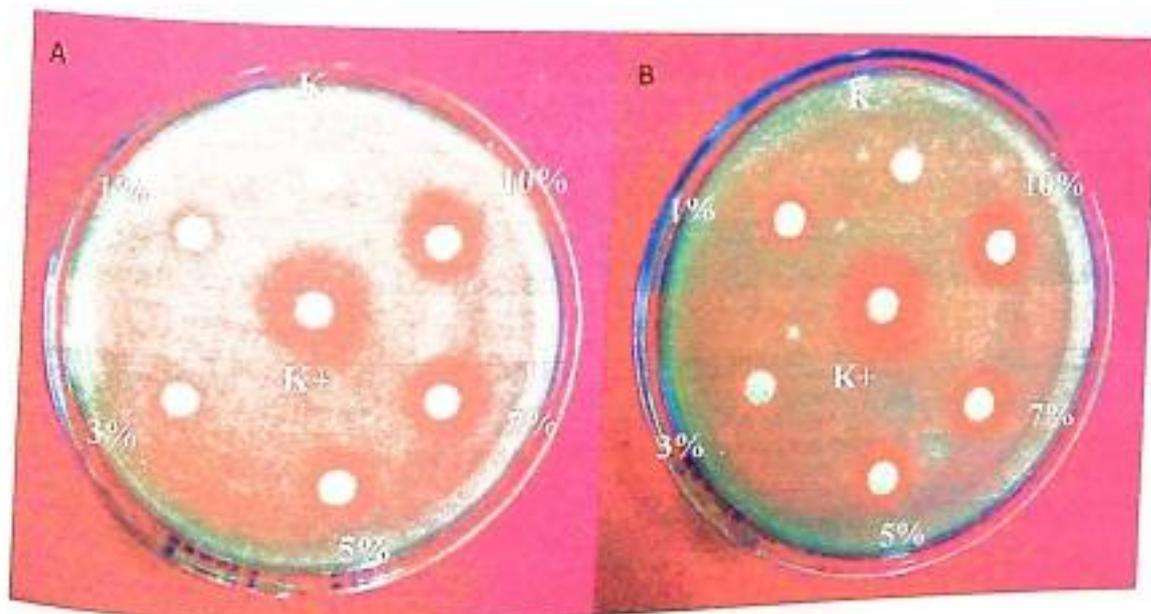


Gambar 15. Foto Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp.* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* setelah Masa Inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam

Berdasarkan Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan dari hasil ekstraksi cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan diameter terbesar pada konsentrasi 10% dengan masa inkubasi 24 jam yaitu 16,91 mm mendekati kontrol positif sebesar 18,43 mm, sehingga dinilai cukup efektif dan tergolong kategori kuat. Konsentrasi 7%, 5%, 3% dan 1% berturut-turut sebesar 15,15 mm, 12,21 mm, 11,58 mm, dan 9,80 mm dinilai kurang efektif.

Pengukuran rata-rata diameter zona hambatan dari hasil uji ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Vibrio cholerae*, menunjukkan diameter terbesar pada konsentrasi 10% dengan masa inkubasi 24 jam yaitu 10,45 mm disusul oleh konsentrasi 7%, 5%, 3% dan 1% berturut-turut sebesar 10,40 mm, 10,00 mm, 9,70 mm, dan 8,95 mm. Dibandingkan dengan kontrol positif yaitu 26,15 mm, pada konsentrasi 5%, 7% dan 10% yang diujikan untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*, dinilai kurang efektif. Sedangkan untuk konsentrasi 1% dan 3% dianggap tidak efektif.

Diameter zona hambatan yang terbentuk dari ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* terhadap bakteri *Vibrio cholerae* setelah masa inkubasi 24 dan 48 jam dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Foto Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp.* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae* setelah Masa Inkubasi (A) 24 jam dan (B) 48 jam

Menurut Davis and Stout (1971) dalam Ambarwati (2007) bila diameter zona hambatan 5 mm atau kurang maka aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat, dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Dari hasil yang diperoleh, menunjukkan hasil yang sangat kuat (23,18 mm) pada bakteri *Escherichia coli*, kuat pada *Staphylococcus aureus* (16,91 mm) dan *Vibrio cholerae* (10,45 mm), dan sedang pada *Salmonella typhi* (10,00 mm).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, terdapat perbedaan diameter zona hambatan pada tiap-tiap jenis mikroba yang diujikan. Menurut Barnet (1992) perbedaan besarnya zona hambatan untuk masing-masing konsentrasi dapat diakibatkan antara lain perbedaan besarnya kandungan zat aktif. Faktor-faktor lain yang juga dianggap dapat mempengaruhi antara lain kepekaan pertumbuhan bakteri, reaksi antara bahan aktif dengan medium dan temperatur inkubasi. Beberapa faktor yang juga mempengaruhi hal ini antara lain adalah pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganisme (Brooks, 2005).

Kemampuan biologis setiap bakteri juga berbeda-beda dalam merespon bahan antibakteri. Salah satu faktor yang paling berpengaruh adalah adanya perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Komponen khusus yang dimiliki oleh bakteri gram positif adalah terdiri atas komponen asam teikhioat, asam teikhuronat, dan polisakarida, sedangkan komponen khusus bakteri gram negatif terdiri atas lipoprotein, selaput luar, dan lipopolisakarida. Selaput luar dinding sel bakteri gram negatif merupakan selaput

ganda fosfolipid yang sebagian besar diganti dengan molekul lipopolisakarida. Selaput luar mempunyai sifat permeabilitas terhadap zat terlarut bermolekul rendah sehingga zat aktif yang ada tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri, akibatnya bakteri lebih sukar dirusak atau dihambat pertumbuhannya (Masduki, 1996).

Hasil yang diperoleh memperlihatkan adanya perbedaan dengan teori, dimana menurut Pratiwi (2008), dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih tahan terhadap kerusakan sedangkan hasil yang diperoleh, zona hambatan terbesar terlihat pada bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* sebesar 23,23 mm pada masa inkubasi 24 jam. Hal ini dapat terjadi karena adanya perbedaan besarnya kandungan zat aktif. Lamanya perendaman *paper disc* mempengaruhi besar kecilnya zona hambatan yang terbentuk, karena adanya penyerapan zat aktif lebih banyak pada *paper disc* yang terendam lebih lama.

Perbandingan diameter zona hambatan antara kontrol positif dengan berbagai konsentrasi ekstrak kloroform cacing tanah *Pheretima sp.* diketahui bahwa zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif lebih besar daripada ekstrak, menurut Setyaningsih (2008) hal ini disebabkan karena ekstrak yang digunakan masih berupa ekstrak kasar (*crude extract*), oleh karena itu perlu dilakukan purifikasi atau fraksinasi.

Sifat suatu antibakteri dapat disimpulkan sebagai bakteriostatik atau bakterisida dengan membandingkan hasil pengukuran diameter hambatan antara masa inkubasi 24 jam dengan 48 jam. Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 1), dapat disimpulkan bahwa ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* pada pelarut

kloroform bersifat bakteriostatik, karena setelah masa inkubasi 48 jam, zona hambatan yang tadinya bening kembali keruh/ditumbuhi bakteri.

Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Kloramfenikol dipilih karena merupakan senyawa antimikroba berspektrum luas yang dapat digunakan untuk bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri, yang dihambat adalah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein bakteri (Brooks, 2005).

Kontrol negatif digunakan untuk melihat apakah respon kematian benar-benar berasal dari sampel dan bukan disebabkan oleh faktor teknis perlakuan. Dalam penelitian ini DMSO (dimetil sulfoksida) digunakan sebagai kontrol negatif karena dapat melarutkan senyawa polar dan non-polar tanpa memiliki aktivitas antimikroba.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **V.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak kloroform cacing tanah *Pheretima sp.* berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri uji, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio cholera* walaupun sifatnya bakteriostatik.

#### **V.2 Saran**

Sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa antimikroba yang terdapat dalam ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* dan ekstrak ini dapat diujikan pada jamur untuk melihat apakah terdapat sifat fungisida atau tidak.

## DAFTAR PUSTAKA

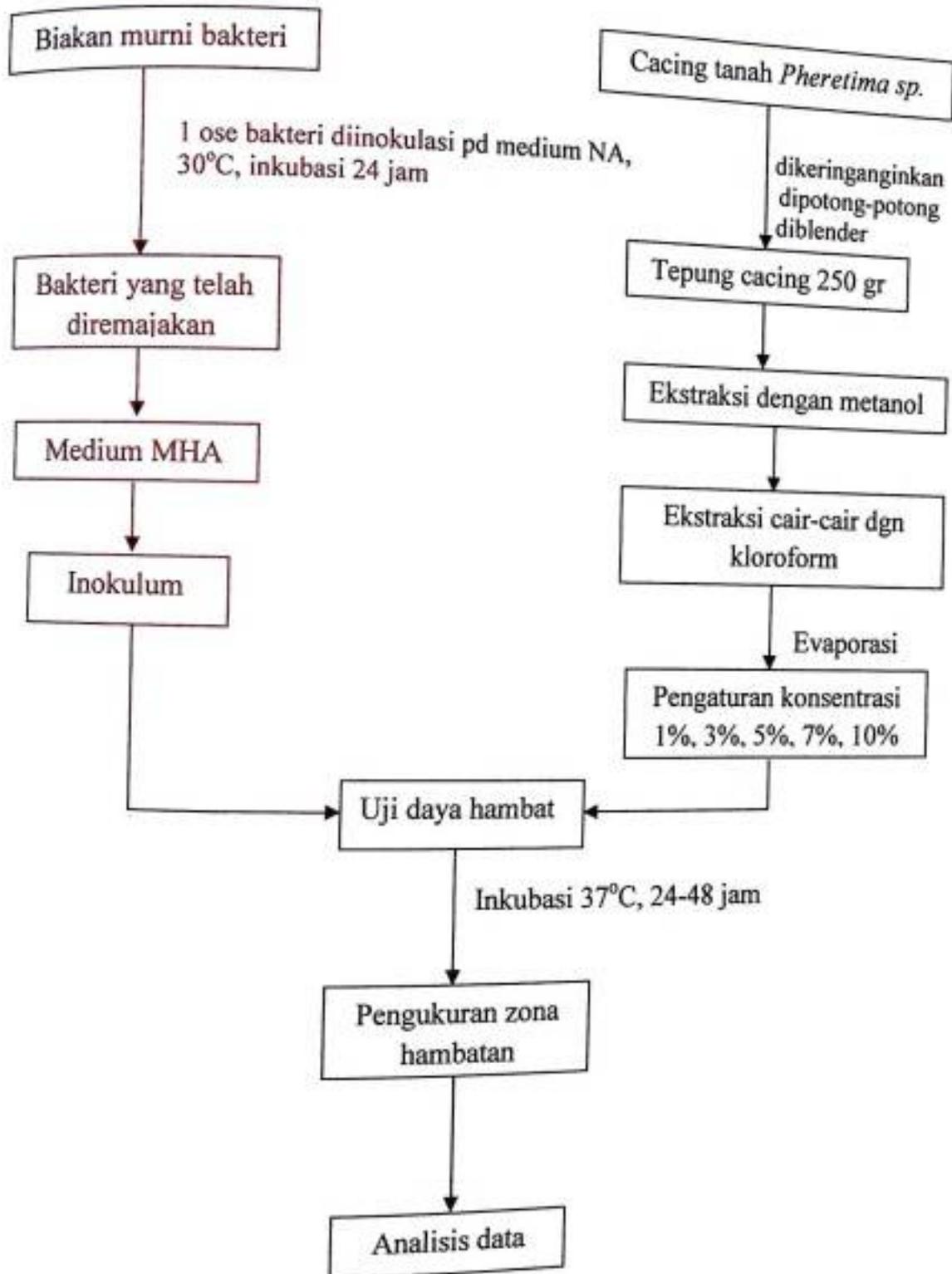
- Alpaci, 2008, **Cacing Tanah Hutan Cemara dari Kepulauan Canary (Tenerife Dan Gran Canaria)**, <http://sekretpacibaraya.blogspot.com/2008/02/cacing-tanah-hutan-cemara-dari.html> (19-01-2009; 14:42).
- Ambarwati, 2007, **Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus***, Biodiversitas Vol. 8, No. 4 : 325.
- Anonimous, 2007, **Horace Wells (1815-1895) Awal Penggunaan Gas Ketawa sebagai Anestesi**, <http://www.bluefame.com/index.php?showtopic=37150> (17-01-2009; 11:35).
- Arifiyanti, D., 2006, **Pengaruh Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp.* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro**, [digilib.upi.edu/pasca/available/etd-0105107-125417/-11k](http://digilib.upi.edu/pasca/available/etd-0105107-125417/-11k) (04-03-2009; 14:30)
- Brooks, Geo F., Janet S. B., Stephen A. M., 2005, **Mikrobiologi Kedokteran**, Salemba medika, Jakarta.
- Cybernews, 2007, **Cacing Tanah Penghalau Penyakit**, <http://www.cbn.net.id/> (27-12-2008; 14:35)
- Djide, N., Sartini, Kadir S., 2005, **Mikrobiologi Farmasi Dasar**, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Dinda, 2008. **Ekstraksi**. <http://medicafarma.blogspot.com> (28-12-2008;13:55).
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1986, **Farmakope Indonesia Edisi III**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Fardiaz, S., 1992, **Mikrobiologi Pangan**, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Feliatra, 2002, **Sebaran Bakteri *Escherichia coli* Di Perairan Muara Sungai Bantan Tengah Bengkalis Riau**, [www.unri.ac.id/jurnal/jurnal\\_natur/vol4\(2\)/feliatra2.pdf](http://www.unri.ac.id/jurnal/jurnal_natur/vol4(2)/feliatra2.pdf) (04-03-2009; 14:35)
- Garrity, G. *et all.*, 2002, **Bergey's Manual Systematic of Bacteriology 2<sup>nd</sup> Edition**, Baltimore, London.

- Grzimek, B. 1974. **Grzimek's Animal Life Encyclopedia Volume 1. Lower Animals**. Van Nostrand Reinhold Company, United States.
- Hasyani, M., 2006, **Bioaktivitas Fraksi Protein dari Alga Laut *Turbinaria decurrens* Bory sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***, Skripsi Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Irmawati, 2007, **Bioaktivitas ekstrak dan fraksi n-Heksana dari Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* sebagai bahan antibakteri**, Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Lay, W.B. & H. Sugyo, 1994, **Analisis Mikroba di Laboratorium**, PT. Raja Grafindo persada, Jakarta.
- Masduki, I., 1997. **Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro**. Jurnal Hasil Penelitian UGM. Yogyakarta.
- Misnawati, 2008, **Bioaktivitas Ekstrak Kloroform Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* sebagai Bahan Antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus***, Skripsi Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Oemarjati, B. S. & Wisnu W., 2000, **Taksonomi Avertebrata Pengantar Praktikum Laboratorium**, UI Press, Jakarta.
- Pelczar, M. J. & E. C. S. Chan, 1998, **Dasar-Dasar Mikrobiologi II**, UI-Press, Jakarta.
- Pratiwi, S. T., 2008, **Mikrobiologi Farmasi**, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Prihatman, K., 2000, **Budidaya Cacing Tanah *Lumbricus* sp.**, <http://www.ristek.go.id> (08-12-2008; 9:27).
- Rukmana, R., 2003, **Budi Daya Cacing Tanah**, Penerbit Kanisius, Jakarta.
- Sayuthi, D., 2000, **Efek Antipiretik Ekstrak Cacing Tanah**, <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0305/29/ilpeng/336450.htm> (11-02-2009; 11:34).
- Setyaningsih, I., 2008. **Ekstraksi Senyawa Antibakteri dari Diatomae dari Diatom *Chatoceros gracilis* dengan berbagai Metode**. J. Biol. Indon. 5 (1): 23-33.

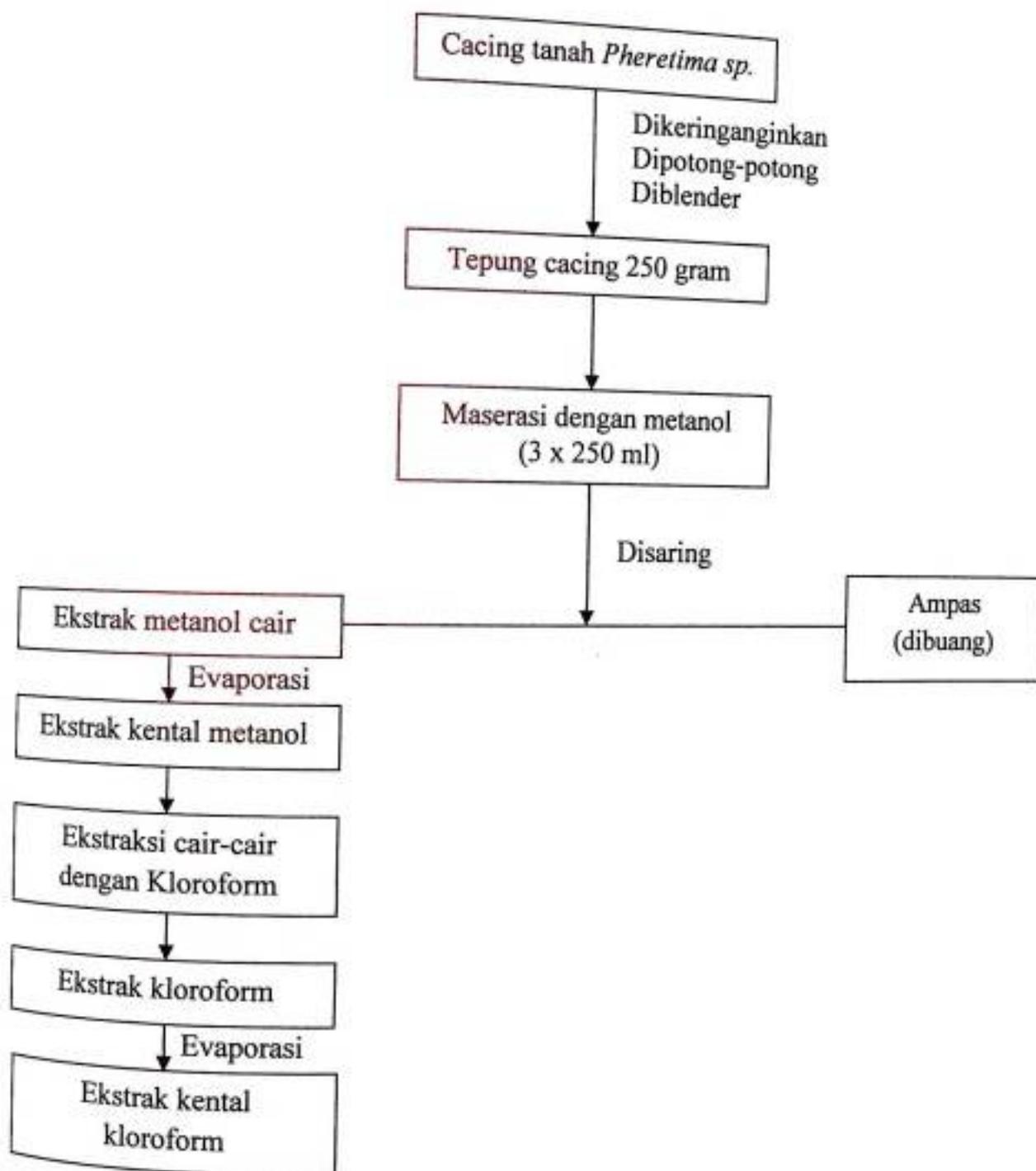


- Sumarni, 2006. **Bioaktivitas Fraksi Protein dari Cacing Tanah (*Lumbricus Terrestris*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Vibrio cholerae***. Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Stehulak, N., 1998, *Staphylococcus aureus* a Must Common Cause, <http://www.ohioline.osu/edu.html> (12-02-2009; 12:21).
- Syamsuddin, A., 2007, **Bioaktivitas Ekstrak Kloroform Cacing Tanah *Lumbricus terrestris* sebagai Anti Bakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus***, Skripsi Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tobo, F., B. T. Mufidah, dan I. Mahmud, 2001, **Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I**, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Waluyo, J., 2006, **Purifikasi dan Karakterisasi Protein Antibakteri Dari Cacing Tanah**, <http://www.adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=gdlhub-gdl-s3-2006-waluyojoko-3407.html> (19-01-2009; 16:23).
- Washington, J. A. 2009. **Principles of Diagnosis**. [gsbs.utmb.edu](http://gsbs.utmb.edu) (15-05-2009; 10:40).
- Wattimena, J. R., Nelly C. S., Mathilda B. W., Elin Y. S., Andreanus A. S. dan Anna R. S., 1991, **Farmakodinamika dan Terapi Antibiotik**, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta.
- Wikipedia, 2008, **Kloroform**, <http://id.wikipedia.org/wiki/kloroform.htm> (06-01-2009; 12:14).
- Wilcox, S. 2006, **Cationic Peptides: A New Hope**, <http://www.scq.ubc.ca> (08-02-2008;12:35).

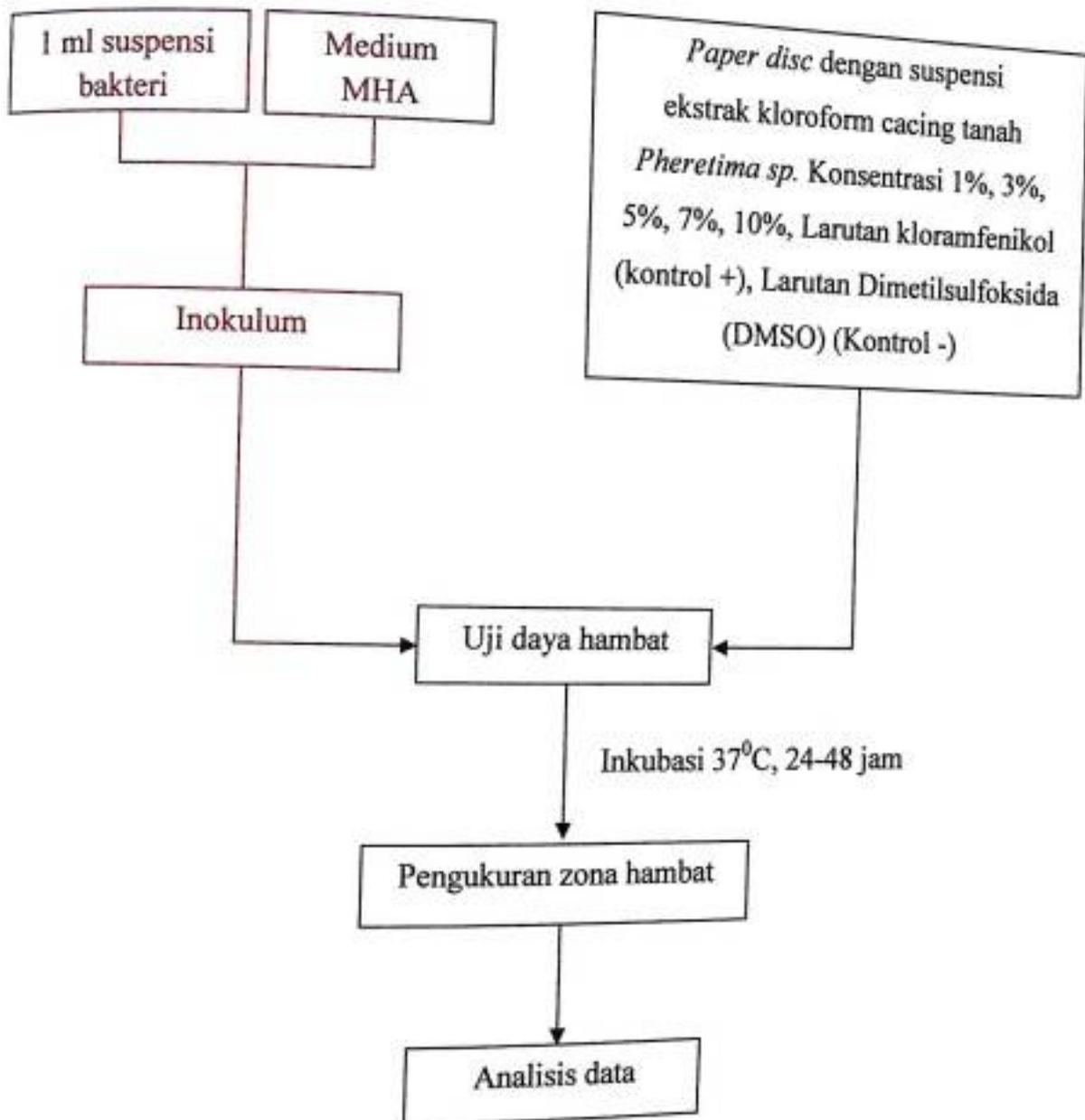
## Lampiran 1. Skema Kerja Keseluruhan



Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Kloroform Cacing Tanah *Pheretima sp.*



Lampiran 3. Skema Kerja Uji Antibakteri dengan Menggunakan Metode Kertas Saring atau Kirby-Bauer (1966)

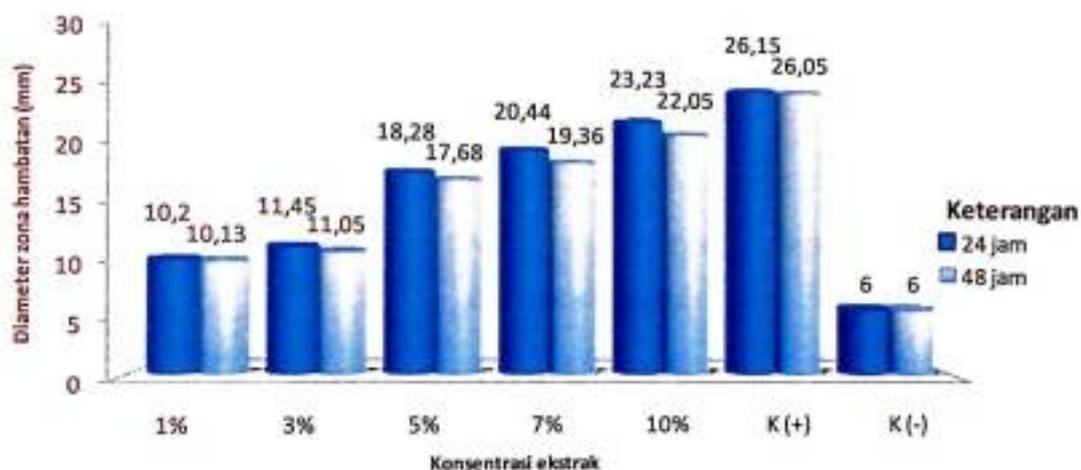


Lampiran 4. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ekstrak *Pheretima sp.* pada Pelarut Kloroform terhadap beberapa Bakteri Uji

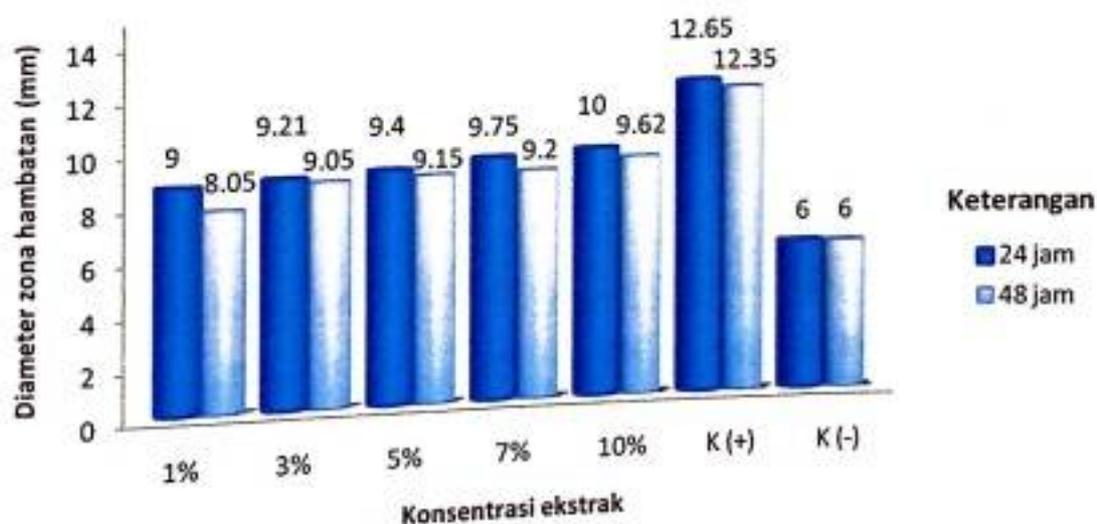
Konsentrasi Ekstrak	Diameter Zona Hambatan (mm) pada beberapa Jenis Bakteri Uji							
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella typhi</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Vibrio cholerae</i>	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
1%	10,35	10,30	9,00	8,05	9,65	9,25	8,95	8,95
	10,35	10,25	9,00	8,05	9,55	9,35	8,95	8,95
	9,90	9,85	9,00	8,05	10,20	8,46	8,95	8,95
Rata-rata	<b>10,20</b>	<b>10,13</b>	<b>9,00</b>	<b>8,05</b>	<b>9,80</b>	<b>9,02</b>	<b>8,95</b>	<b>8,95</b>
3%	11,47	10,86	9,48	8,95	12,34	10,35	9,70	8,70
	11,53	10,83	9,05	9,25	12,15	10,55	9,70	8,70
	11,35	10,90	9,10	8,95	10,25	9,85	9,70	8,70
Rata-rata	<b>11,45</b>	<b>11,05</b>	<b>9,21</b>	<b>9,05</b>	<b>11,58</b>	<b>10,25</b>	<b>9,70</b>	<b>8,70</b>
5%	20,30	16,60	9,15	9,05	13,05	12,65	10,00	9,03
	17,60	18,90	10,05	9,65	12,46	11,05	10,00	9,03
	16,95	17,55	8,98	8,75	11,12	9,90	10,00	9,03
Rata-rata	<b>18,28</b>	<b>17,68</b>	<b>9,40</b>	<b>9,15</b>	<b>12,21</b>	<b>11,20</b>	<b>10,00</b>	<b>9,03</b>
7%	20,60	19,55	10,15	9,55	14,65	14,40	10,25	8,65
	20,75	19,48	9,95	8,95	15,25	15,45	9,95	8,15
	19,98	19,05	9,15	9,10	15,55	14,48	11,00	10,65
Rata-rata	<b>20,44</b>	<b>19,36</b>	<b>9,75</b>	<b>9,20</b>	<b>15,15</b>	<b>15,11</b>	<b>10,40</b>	<b>9,15</b>
10%	22,95	22,05	10,00	9,80	16,65	16,55	10,25	10,00
	23,30	21,95	9,95	9,98	16,58	17,25	10,58	9,13
	23,45	22,15	10,05	9,08	17,50	16,60	10,55	9,25
Rata-rata	<b>23,23</b>	<b>22,05</b>	<b>10,00</b>	<b>9,62</b>	<b>16,91</b>	<b>16,80</b>	<b>10,45</b>	<b>9,46</b>
K (+)	25,95	25,90	11,15	11,25	19,05	18,05	20,98	20,75
	26,53	26,40	15,05	15,00	18,25	17,25	20,58	20,25
	25,98	25,86	11,75	10,80	17,98	16,40	21,00	20,95
Rata-rata	<b>26,15</b>	<b>26,05</b>	<b>12,65</b>	<b>12,35</b>	<b>18,43</b>	<b>17,23</b>	<b>20,85</b>	<b>20,65</b>
K (-)	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>

**Lampiran 5. Grafik Hasil Pengukuran Zona Hambatan Ekstrak Cacing Tanah Lokal *Pheretima sp.* pada Pelarut Kloroform Terhadap Bakteri Uji yang Digunakan.**

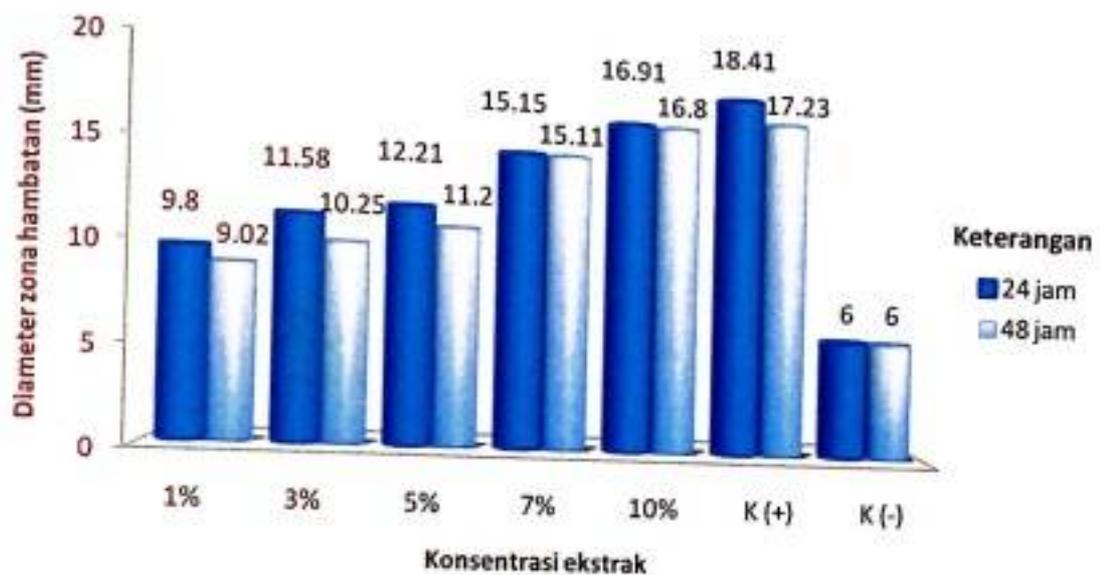
- a. Grafik Perbandingan Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ekstrak *Pheretima sp.* terhadap *Escherichia coli*



- b. Grafik Perbandingan Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ekstrak *Pheretima sp.* terhadap *Salmonella typhi*



c. Grafik Perbandingan Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ekstrak *Pheretima sp.* terhadap *Staphylococcus aureus*



d. Grafik Perbandingan Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Ekstrak *Pheretima sp.* terhadap *Vibrio cholerae*

