

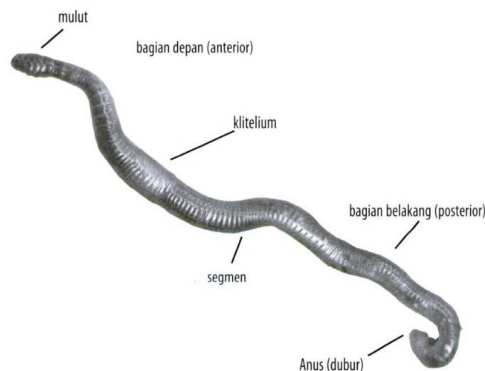
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. *Lumbricus rubellus*

Lumbricus rubellus dikenal masyarakat pedesaan yang rutinitas ada di sawah, kebun dan ladang. Masyarakat lebih mengenalnya dengan sebutan cacing merah. Hewan ini hidup ditanah yang terlindung dari sinar matahari, lembab, gembur dan serasah. Habitat tersebut sangat spesifik bagi *Lumbricus rubellus* untuk bertumbuh dan berkembang biak dengan baik (Palungkun, 2010).

Klasifikasi hewan *Lumbricus rubellus* Hoffmeister, (1843):

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Annelida
Class	:	Citellata
Sub Class	:	Oligochaeta
Ordo	:	Haplotaxida
Famili	:	Lumbricidae
Genus	:	<i>Lumbricus</i>
Spesies	:	<i>Lumbricus rubellus</i>



Gambar 1. Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) (Palungkun, 2010)

Lumbricus rubellus berbentuk simetris bilateral dan silindris. *Lumbricus rubellus* hidup didalam tanah di daerah tropis dengan bagian punggung tubuh berwarna merah muda sampai tua sedangkan bagian tubuh ventral berwarna lebih muda. Kulit luar atau kutikula selalu dibasahi oleh kelenjar lendir yang diproduksi dari *Lumbricus rubellus* hal ini berguna untuk membantu pernafasan, melicinkan tubuh dan mempermudah gerakan dalam tanah. Berukuran kecil dengan panjang antara 4-6 cm umumnya *Lumbricus rubellus* akan mencapai usia dewasa pada umur 179 hari, Sedangkan umurnya bisa mencapai sampai

2,5 tahun. Kandungan gizi yang dimiliki *Lumbricus rubellus* banyak mengandung protein 64,63 %, asam amino prolin 15 % dari 62 asam amino (Cho *et al.*, 1998) dalam (Damayanti *et al.*, 2009). Kandungan pada ekstrak *Lumbricus rubellus* terdapat zat antipiretik, vitamin dan enzim misalnya lumbrokinase, peroksidase, katalase dan selulosa yang berkhasiat untuk pengobatan (Priosoeryanto, 2001). Lumbricin yang merupakan golongan peptida antimikroba spektrum luas (*broad spectrum*) yang berarti dapat menghambat pertumbuhan bakteri positif maupun negatif. Peptida yang terkandung memiliki fungsi sebagai molekul sinyal pada hewan atau sebagai antibiotik dalam beberapa organisme yang lebih rendah. Peptida merupakan rantai polipeptida besar terdiri dari sampai dengan 50 asam amino yang dapat diklasifikasikan berdasarkan fungsi dan juga sintesis. Peptida memiliki beberapa jenis umum yang diklasifikasikan berdasarkan fungsi termasuk hormon, neuropeptida, dan alkaloid (Khalimah *et al.*, 2008) dalam (Kusumaningrum, 2019). senyawa aktif *Lumbricus rubellus* merupakan golongan alkaloid. Senyawa alkaloid berperan dalam aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, yang mengakibatkan sel tidak terbentuk sempurna kemudian mengalami lisis (Sjahid, 2008).

Lumbricus rubellus memiliki aktivitas antibakteri karena menghasilkan zat pengontrol bakteri yang disebut lumbricin. Lumbricin merupakan senyawa peptida yang tersusun dari asam amino lengkap terutama prolin yang dapat menghambat bakteri seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, dan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* (Popović *et al.*, 2005) dalam (Oktavi *et al.*, 2018). Tubuh *Lumbricus rubellus* terdapat senyawa caelomocyter (bagian sel darah putih) yang didalamnya terdapat lisosom yang berperan dalam aktivitas fagositosis serta berfungsi untuk meningkatkan imunitas. Senyawa aktif *Lumbricus rubellus* merupakan golongan alkaloid. Senyawa alkaloid berperan dalam aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, yang mengakibatkan sel tidak terbentuk sempurna kemudian mengalami lisis (Adrian, 2002).

Adrian (2002) mengungkapkan bahwa hasil uji kimia, *Lumbricus rubellus* juga mengandung senyawa aktif golongan senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid pada *Lumbricus rubellus* mengandung atom nitrogen dan bersifat basa (pH lebih dari 7) yang juga mempunyai aktivitas antibakteri dan antipiretik. Mekanisme kerja alkaloid dalam

menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk atau tidak terbentuk secara sempurna.

Lumbricin merupakan senyawa golongan peptida alkaloid sehingga senyawa alkaloid yang dicurigai sebagai antimikroba. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *Lumbricus rubellus* mengandung enzim fibrinolitik (lumbrokinase), lumbrofebrin, lumbricin-1, peroksidase, katalase, dan selulose, yang berguna dalam menurunkan panas tubuh yang disebabkan infeksi (Palungkun, 2010). Kandungan kimia *Lumbricus rubellus* yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri adalah lumbricin-1. Lumbricin-1 dapat digunakan sebagai bahan obat terutama sebagai antibakteri. Mekanisme senyawa aktif ini dalam menghambat bakteri dengan membuat pori di dinding sel bakteri sehingga hal ini menyebabkan sitoplasma sel bakteri menjadi terpapar dengan lingkungan luar yang dapat menyebabkan kematian bakteri (Suryani, 2010) didalam (Busman *et al.*, 2018).

Lumbricin-1 adalah peptida yang bermuatan +1 yang dibentuk dari 10 asam amino bermuatan positif dan 9 asam amino yang bermuatan negatif (Cho *et al.*, 1998). Kelarutan peptida sangat bergantung pada faktor karakteristik pelarut dan zat terlarut, pelarut dan zat terlarut merupakan faktor penting yang harus diperhatikan. Lumbricin-1 adalah peptida yang bermuatan +1 yang dibentuk dari 10 asam amino bermuatan positif dan 9 asam amino yang bermuatan negatif. Peptida yang memiliki muatan +1 atau lebih hanya akan larut dalam larutan yang bersifat asam sehingga penelitian ini digunakan pelarut yang bersifat asam, yaitu asam asetat (Ilahi, 2018). Telah kita ketahui bahwa *Lumbricus rubellus* banyak mengandung enzim peroksidase, katalase, ligase, dan selulase. Pemanfaatan *Lumbricus rubellus* untuk antipiretik lebih aman karena, komponen kimia cacing diketahui memiliki senyawa aktif sebagai antipiretik dari ekstrak *Lumbricus rubellus* dengan golongan senyawa alkaloid yang mengandung atom nitrogen dan bersifat basa ($\text{pH} > 7$). *Lumbricus rubellus* memiliki daya bunuh terhadap perkembangan bakteri sebab memiliki kandungan protein sangat besar, enzim, collagenase enzyme, fibrinolysin enzyme, serta Protibinolycin dan segolongan senyawa alkaloid yang memiliki atom nitrogen yang bertabiat bakteriostatik. Sifat bakteriostatik kandungan kimiawi *Lumbricus rubellus* bekerja sanggup membunuh mikroorganisme dengan metode menghambat

enzim khusus yang diperlukan buat menolong menyusun dinding sel bakteri (Sapto 2011).

B. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan memakai pelarut yang cocok. Proses ekstraksi dihentikan pada saat tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tumbuhan (Mukhriani, 2016). Prinsip ekstraksi ialah dengan melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar serta senyawa non polar dalam pelarut non polar. Biasanya ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan) setelah itu pelarut yang kepolarannya menengah(diklormetan maupun etil asetat) sesudah itu pelarut yang bertabiat polar (metanol/ metanol). Bersumber pada fase yang diekstraksi, ekstraksi dibagi jadi 2 bagian ialah ekstraksi cair- cair serta ekstraksi cair padat. Ekstraksi cair padat terdiri dari beberapa metode adalah maserasi, perkolasi serta ekstraksi sinambung (Ilahi, 2018).

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi cair padat yaitu metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Maserasi umumnya dilakukan pada temperatur suhu kamar dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang larut akan terlarut. Depkes RI, (2000) Maserasi adalah proses mengekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengocokan dengan temperatur ruangan. Remaserasi merupakan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Maserasi merupakan metode yang sederhana dan banyak digunakan baik untuk skala kecil maupun skala industri. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah Perlengkapan dan prosedur yang digunakan tidak terdapatnya proses pemanasan sehingga senyawa-senyawa yang bertabiat labil oleh panas tidak menjadi rusak ataupun hilang (Nurhasnawati *et al.*, 2017) dalam (Huda *et al.*,2019)

C. Pelarut

Pelarut adalah benda berbentuk cairan atau gas yang dapat melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan. Air merupakan pelarut paling umum digunakan dalam

kehidupan sehari-hari. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah pelarut organik (mengandung karbon). Pelarut memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang akan dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar (Guenther, 1987).

Pelarut yang digunakan adalah asam asetat dengan rumus struktur CH_3COOH juga dikenal sebagai asam etanoat adalah bahan kimia organik, dinamai cuka karena rasanya yang asam dan baunya yang menyengat. Asam asetat adalah nama trivial atau nama dagang dari senyawa ini, dan merupakan nama yang paling direkomendasikan oleh IUPAC. Namanya berasal dari kata Latin *acetum*, yang berarti cuka. Nama sistematis senyawa ini adalah asam etanoat. Asam asetat glasial adalah nama trivial yang mengacu pada asam asetat yang tidak dapat bercampur dengan air. Asam asetat bebas air membentuk kristal seperti es pada $16,7^\circ\text{C}$, sedikit dibawah suhu kamar. Singkatan yang paling sering digunakan, dan singkatan resmi untuk asam asetat, adalah AcOH atau HOAc , adalah singkatan dari gugus asetil, $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}$. Dalam keadaan murni, asam asetat bebas air adalah cairan tidak berwarna yang menyerap air dari lingkungan (higroskopis) dan membeku di bawah $16,7^\circ\text{C}$ (62°F) menjadi padatan kristal tidak berwarna. Asam asetat adalah salah satu asam karboksilat paling sederhana, merupakan reagen yang sangat penting dan bahan kimia industri yang digunakan untuk memproduksi berbagai macam bahan. Asam asetat cair adalah pelarut protik hidrofilik (polar), seperti air dan etanol. Asam asetat memiliki konstanta dielektrik sedang sebesar 6,2, sehingga dapat melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik dan gula maupun senyawa non-polar seperti minyak dan unsur-unsur seperti belerang dan iodin. Asam asetat mudah bercampur dengan pelarut polar atau non polar lainnya seperti air, kloroform dan heksana. Sifat kelarutan dan kemudahan asam asetat membuatnya banyak digunakan dalam industri kimia (Safitri, 2008) dalam (Ilahi, 2018).

Kelarutan peptida sangat bergantung pada faktor karakteristik pelarut dan zat terlarut merupakan faktor penting yang harus diperhatikan. Lumbricin-1 adalah peptide yang bermuatan +1 yang dibentuk dari 10 asam amino bermuatan positif dan 9 asam amino yang bermuatan negatif. Peptida yang memiliki muatan +1 atau lebih hanya akan larut dalam larutan yang bersifat asam. Hal ini telah dibuktikan oleh Ekasari *et al.* (2012) mengenai daya antibakteri tepung cacing

tanah terhadap *Vibrio harveyi* menggunakan air sebagai pelarut, namun penelitian ini tidak menemukan adanya zona hambat yang terbentuk. Hal ini dapat disebabkan oleh muatan positif yang dimiliki Lumbricin-1, sehingga asam asetat menjadi pilihan yang lebih baik dibandingkan dengan air.

Penelitian yang dilakukan oleh Andayani *et. al.* (2016) hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa tepung *Lumbricus rubellus* dengan konsentrasi 300mg/5ml; 400mg/5ml; 500mg/5ml dalam pelarut asam asetat 50% dapat menghambat pertumbuhan *E. faecalis*. Berdasarkan klasifikasi Davis dan Stout, diameter zona hambat yang terbentuk dari larutan tepung cacing tanah konsentrasi 300mg/5ml, 400mg/5ml, 500mg/5ml dan 600mg/5ml dengan pelarut asam asetat 50% termasuk dalam kategori kuat dengan rata-rata diameter zona hambat 11,25 mm, 13 mm, 12,25 mm dan 11,75 mm. Oleh sebab itu pada penelitian digunakan pelarut yang bersifat asam, yaitu asam asetat.

D. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang tidak memiliki klorofil. Bakteri juga merupakan organisme uniseluler dan tidak memiliki percabangan sejati, kecuali pada bakteri tingkat tinggi seperti actinomycetales. Bakteri berukuran sangat kecil sehingga dapat divisualisasikan hanya di bawah mikroskop. Bakteri secara medis umumnya berukuran diameter 0,2 – 1,5 m dan panjang sekitar 3-5 m. (Vinet dan Zhedanov, 2011).

Bakteri sebagai makhluk hidup tentu mempunyai informasi genetik berupa DNA, tetapi tidak terlokalisasi dalam nukleus dan tidak memiliki membran inti. DNA pada bakteri berbentuk sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Prasetyo, 2015). Dinding sel bakteri berada di antara kapsul atau struktur lapisan mukus dan membran sitoplasma. Ketebalan dinding sel bakteri berkisar dari 10 - 35 nm. Dinding sel bakteri itu berpengaruh dalam pembelahan dan pertumbuhan sel bakteri. Selain berasal dari Mycoplasma, semua sel bakteri memiliki dinding sel. dinding sel Bakteri memberikan setiap sel bakteri dengan bentuk yang unik. jika Hilangnya dinding sel bakteri, dan kemungkinan bentuk sel bakteri berubah (Boleng, 2015).

Bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu bakteri yang

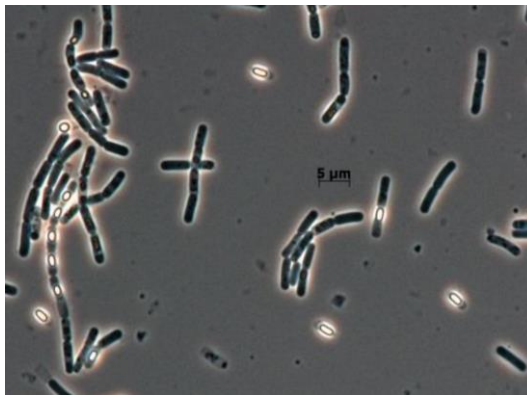
menguntungkan dan bakteri yang merugikan. Adapun jenis bakteri yang merugikan antara lain *Bacillus subtilis* dan *Shigella dysenteriae*. Kedua bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran pencernaan (Prasetyo dan Sasongko, 2014). Bakteri yang merugikan dan tidak dikehendaki keberadaannya pada suatu media maupun lingkungan tertentu, harus dihambat pertumbuhannya dengan cara dimusnahkan. Cara ini digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen (bakteri yang dapat menimbulkan penyakit). Pengendalian bakteri mencakup upaya sterilisasi, disinfeksi, dan penggunaan antibakteri (termasuk antibiotik). Bakteri dapat diklasifikasi berdasarkan bentuk, pewarnaan gram, suhu, dan kebutuhan oksigen. Salah satu contoh klasifikasi yang sering digunakan ialah klasifikasi berdasarkan pewarnaan gram. Dengan pewarnaan gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

Bakteri yang telah diwarnai dengan pewarnaan dasar warnanya tidak dapat terhapus oleh alkohol dan akan berwarna violet karena terwarnai oleh kristal violet, serta tidak lagi menyerap pewarna kontras. bakteri yang mempunyai sifat seperti ini dikelompokkan menjadi bakteri Gram positif. Sedangkan, kelompok bakteri yang telah diwarnai dengan pewarnaan dasar dan warnanya terhapus setelah diberikan alkohol, akan menyerap pewarna safranin atau karbol fuhsin yang dipakai sebagai pewarna kontras, sehingga dalam preparat akan terlihat warna merah (warna safranin atau karbol fuhsin). Bakteri yang bersifat demikian disebut dengan bakteri Gram negatif (Sujaya, 2016) dalam (Handoyo, 2021).

E. *Bacillus cereus*

Menurut Integrated Taxonomic Information System (TSN 959821), bakteri *bacillus cereus* diklasifikasikan sebagai berikut (Frankland, 1887) :

Kingdom	:	Bacteria
Subkingdom	:	Posibacteria
Phylum	:	Firmicutes
Class	:	Bacilli
Order	:	Bacillales
Family	:	Bacillaceae
Genus	:	Bacillus
Species	:	<i>Bacillus Cereus</i>



Gambar 2. *Bacillus cereus* (Frankland dan Frankland, 1887)

Bacillus cereus adalah bakteri Gram positif, berbentuk batang, pembentuk spora yang umum ditemukan di tanah dan makanan. *Bacillus cereus* dapat bertahan dalam kondisi yang keras dan kering, juga dapat bertahan dari proses pasteurisasi berukuran 1,0 μm berada dalam rantai 3,0-5,0 μm . Tumbuh pada kisaran suhu dari 8°C hingga 55°C, suhu optimal sekitar 28°C-35°C, dan tidak memiliki toleransi yang nyata untuk pH rendah (min. 5.0–6.0, tergantung pada aktivitas air (min $\sim$ 0.95)). *Bacillus cereus* adalah salah satu patogen utama penyebab penyakit bawaan makanan yang terkontaminasi oleh produk makanan kering dan nasi dengan suhu yang tidak sesuai untuk menyimpan makanan sehingga memicu tumbuhnya bakteri *Bacillus cereus*. Penyakit bawaan makanan *Bacillus cereus* dapat menyebabkan mual, muntah, dan diare yang parah dan biasanya sembuh sendiri, meskipun demikian, beberapa penyakit serius dan kematian telah dilaporkan akibat dari bakteri tersebut. Pada 1950-an, Hauge menunjukkan bahwa konsumsi saus vanila yang terkontaminasi *Bacillus cereus* dapat menyebabkan diare. Sejak penemuan Hauges yang luar biasa, dua kompleks toksin protein (Nhe dan Hbl) dan toksin protein tunggal (CytK) telah dijelaskan, yang umumnya dianggap berkontribusi pada jenis keracunan makanan yang menyebabkan diare (Ehling *et al.*, 2019).

F. *Klebsiella pneumoniae*

Menurut Integrated Taxonomic Information System (TSN 9751) bakteri *Klebsiella pneumoniae* diklasifikasikan sebagai berikut (Schroeter, 1886) :

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Negibacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Klebsiella
Species	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>



Gambar 3. *Klebsiella pneumoniae* (Fauziah, 2019)

Klebsiella sp merupakan salah satu bakteri dari famili *Enterobacteriaceae* penghasil enzim extended spectrum β -lactamase (ESBL) yang resisten terhadap cefotaxime di Jerman pada tahun 1983. ESBL berasal dari mutasi β -laktamase yang menyebabkan peningkatan aktivitas enzimatis β -lactamase sehingga enzim ini dapat menghidrolisis cephalosporin generasi III dan aztreonam (Pajirau, 2010). *Klebsiella pneumoniae* merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang, amotil, koloni besar, laktosa terfermentasi, dan tinggi karbohidrat, negatif terhadap tes merah motil (Jawetz et al., 2005). *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan pneumonia. Pneumonia merupakan proses infeksi akut yang mengenai jaringan paru (alveoli). *Klebsiella pneumoniae* biasanya menyerang orang dengan sistem kekebalan yang lemah, seperti pecandu alkohol, penderita diabetes, dan penderita penyakit paru-paru kronis. *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan sistem kemih, sistem kemih, napas dan darah (Brisse et al., 2009).

Kartasmita (2010) melaporkan pneumonia ialah penyakit pemicu kematian kedua sangat besar setelah diare pada bayi. Bakteri

ialah pemicu pneumonia sangat sering (90%). Bakteri paling sering yang menyebabkan pneumonia, ialah *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus sp*, serta *Klebsiella pneumoniae* (Alsagaff *et al.*, 2005). *Klebsiella pneumoniae* ialah bakteri penyebab pneumonia sangat besar pada balita serta juga orang dewasa yang diperoleh dari infeksi rumah sakit. Perihal ini teruji bahwa sekitar 93% balita serta orang dewasa terserang pneumonia akibat peradangan *Klebsiella pneumoniae*. Dalam kondisi sehat tidak terjadi pertumbuhan kolonisasi *Klebsiella pneumoniae* yang diakibatkan oleh mekanisme pertahanan tubuh. Apabila terjadi ketidakseimbangan daya tahan tubuh, bakteri patogen ini sanggup berkembang biak lebih cepat serta mengakibatkan penyakit pneumonia (Rudan *et al.*, 2008). Konsumsi antibiotik yang lebih dahulu efisien menyembuhkan penyakit pneumonia dikala ini malah memunculkan dampak samping berupa terbunuhnya bakteri baik dalam usus yang berfungsi dalam menyeimbangkan serta juga meningkatkan daya tahan tubuh. Tidak hanya itu, antibiotik dikenal bisa memunculkan resistensi terhadap bakteri pemicu penyakit peradangan (Khalili *et al.*, 2012; Seth *et al.*, 2012). Resistensi mikroba yang meluas terhadap obat-obatan mendorong pentingnya penggalan sumber antimikroba dari bahan alam salah satunya pemanfaatan ekstrak cacing tanah sebagai alternatif dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

G. Protein

Kata protein berasal dari “protos” atau “proteos” yang bermakna pertama atau utama. Protein adalah komponen utama sel manusia atau hewan. Sel yang terdapat dalam manusia atau hewan itu merupakan pembentukan tubuh, maka protein yang terdapat dalam makanan berfungsi sebagai zat utama dalam pembentukan dan pertumbuhan tubuh (Poejadi, 2009:81)

Protein adalah makromolekul polipeptida yang tersusun dari sejumlah L-asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein dalam makanan nabati terlindung oleh dinding sel yang terdiri atas selulosa sehingga daya cerna sumber protein nabati pada umumnya lebih rendah dibandingkan dengan sumber protein hewani (Probosari, 2019). Molekul protein tersusun atas satu rantai asam amino tunggal yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Rantai ini terlipat dalam berbagai cara sehingga membentuk ikatan antara asam-asam amino

yang terletak saling berdampingan melalui ikatan hidrogen antara atom oksigen dan nitrogen, atau melalui interaksi antar rantai samping. Asam amino yang menyusun rantai protein memiliki struktur kimia yang bervariasi, antara lain hidrofilik, hidrofobik, aromatik, alifatik, dan heterosiklik. Urutan asam amino menentukan identitas dan fungsi protein (Probosari, 2019).

Protein dapat dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis dengan kualitatif melibatkan reaksi Xantoprotein, reaksi; Hopkins-Cole; reaksi Millon; Reaksi Nitroprusida; reaksi sakaguchi. Untuk analisis secara kuantitatif dapat menggunakan metode kjeldahl; metode Lowry; metode Biuret; metode spektrofotometer UV; metode turbidimetri atau kekeruhan; dan metode pengecatan.

H. Diare

Diare merupakan suatu kondisi dimana seseorang buang air besar dengan konsistensi lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih dari tiga kali dalam satu hari (Depkes RI, 2011). Diare yaitu buang air besar (defekasi) dengan tinja berbentuk cair atau setengah cair (setengah padat), kandungan air tinja lebih banyak dari biasanya lebih dari 200 g atau 200 ml/24 jam. Buang air besar tersebut dapat/tanpa disertai lendir dan darah. Diare didefinisikan sebagai buang air besar lebih dari 3 kali sehari dengan konsistensi lembek atau cair, namun definisi yang lebih tepat adalah apabila terdapat salah satu atau lebih gejala peningkatan frekuensi defekasi, konsistensi feses dan jumlah feses (Herbowo dan Firmansyah, 2003).

Rosari *et al.* (2013) diare adalah suatu keadaan yang ditandai dengan bertambahnya frekuensi defekasi lebih dari tiga kali sehari yang disertai dengan perubahan konsistensi tinja menjadi lebih cair, dengan ataupun tanpa darah dan dengan ataupun tanpa lendir. Pada usia bayi keadaan frekuensi buang air besar lebih dari 4 kali, dan pada usia anak yaitu 3 kali dengan konsistensi feses encer, dapat berwarna hijau atau dapat pula bercampur lendir darah/lendir saja (Suharyono 2008) dalam (Tommy, 2016).

Secara klinis diare dapat dikategorikan dalam enam golongan besar yaitu infeksi akibat bakteri, virus atau invasi parasit, malabsorpsi, alergi, keracunan, imunodefisiensi dan lain sebagainya (Depkes RI, 2011). Diare biasanya ditandai dengan frekuensi mengeluarkan feses melebihi frekuensi normal, konsistensi encer, bersifat akut dan kronis.

Diare akut ditandai dengan adanya infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*, *Shigella SP*, *Salmonella SP*, virus seperti rotavirus dan adenovirus, amuba, dapat juga oleh toksin bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Clostridium welchii* yang mencemari makanan dan juga dapat disebabkan oleh suatu penyakit diantaranya *Colitis ulcerosa*, *p. Chrohn*, *irritable bowel syndrome*, kanker kolon dan infeksi HIV. Diare bisa menyebabkan demam, sakit perut, pengurangan nafsu makan, rasa letih serta penurunan berat badan. Diare bisa menimbulkan kehabisan cairan serta elektrolit secara tiba-tiba, sehingga bisa menyebabkan terjadinya berbagai macam komplikasi seperti kehilangan cairan tubuh, renjatan hipovolemik, kerusakan organ hingga menyebabkan koma (Mafazah, 2013).

Diare termasuk penyakit menular dengan gejala-gejala seperti: perubahan bentuk dan konsistensi tinja menjadi lembek sampai mencair dan bertambahnya frekuensi buang air besar lebih dari pada biasanya (tiga kali atau lebih dalam sehari) disertai muntah-muntah, sehingga penderita akan mengalami kekurangan cairan tubuh (dehidrasi) yang pada akhirnya apabila tidak mendapat pengobatan segera dapat menyebabkan kematian (Hutasoit, 2020).

Kebersihan makanan dan minuman merupakan bagian terpenting untuk diperhatikan karena, berkaitan langsung dengan kondisi tubuh manusia. Jika makanan maupun minuman yang akan dikonsumsi tidak terjamin kebersihannya, maka dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, mulai dari penyakit ringan hingga berat yang disebabkan oleh bakteri yang terkontaminasi dengan makanan yang tidak bersih.

I. Pneumonia

Pneumonia adalah infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli) dan mempunyai gejala batuk, sesak nafas, ronki, dan infiltrat pada foto rontgen. Terjadinya pneumonia pada anak sering kali bersamaan dengan terjadinya proses infeksi akut disebut bronkopneumonia, dalam pelaksanaan pengendalian penyakit ISPA semua bentuk pneumonia (pneumonia maupun bronkopneumonia) disebut Pneumonia (Kaunang *et al.*, 2016).

Bakteri yang menyebabkan pneumonia adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Klebsiella pneumoniae* adalah spesies basil Gram negatif yang mampu dalam memproduksi enzim β -lactamase dan

menghidrolisis cincin β lactam cephalosporin, penicillin dan aztreonam disebut juga bakteri *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) (Hayati *et al.*, 2017). Laporan dari beberapa pusat paru di Indonesia (Medan, Jakarta, Surabaya, Malang dan Makasar), sebanyak 45,18% dari hasil pemeriksaan mikrobiologi bahan sputum, bakteri Gram negatif yang terbanyak ditemukan menjadi penyebab pneumonia komunitas (*community acquired pneumonia*) adalah *Klebsiella pneumoniae* (Makalew, 2016). Jenis pneumonia yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* adalah pneumonia komuniti (*community acquired pneumonia*). Strain baru *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan pneumonia nosokomial (*hospitality acquired pneumonia*) yang menunjukkan bahwa penyakit pneumonia tersebut didapatkan saat pasien berada di rumah sakit atau tempat pelayanan kesehatan. *Klebsiella pneumoniae* umumnya menyerang individu dengan gangguan imunitas, seperti pecandu alkohol, penyandang diabetes, penderita penyakit paru kronik (Kuswiyanto, 2016).

J. Antibakteri

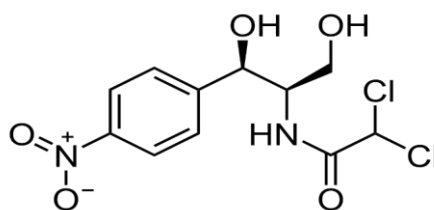
Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen. Pengendalian pertumbuhan bakteri bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi akibat bakteri, membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh bakteri. Antibakteri dibagi menjadi dua bagian yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik yaitu untuk menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal adalah untuk membunuh bakteri (Magani *et al.*, 2019).

Daya penghambatan antibakteri dibagi menjadi dua bagian yaitu, antibakteri yang berspektrum sempit dan luas. Antibakteri berspektrum sempit ialah antibakteri yang dapat bertindak untuk membunuh bakteri tertentu saja sedangkan antibakteri berspektrum luas merupakan antibakteri yang dapat bertindak untuk membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Dicky, 2019). Mekanisme kerja antibakteri dapat menghancurkan dinding sel. Peran dinding sel bakteri adalah untuk membentuk tubuh dan melindungi bagian tubuh dan struktur sel bakteri. Mekanisme kerja antimikroba yakni dengan melisis dinding sel yang dapat berpengaruh pada bentuk serta struktur dinding sel bakteri yang berakibatkan membunuh sel bakteri

karena, terjadi kerusakan dinding sel. Antibakteri juga dapat merusak membran sel. Membran sel bakteri berfungsi untuk mengatur nutrisi dan metabolit yang masuk dan keluar. Antibakteri dapat mengganggu aktivitas biosintesis maupun aktivitas transportasi sel bakteri yang dapat membuat sel bakteri mati. Proses replikasi DNA bakteri sangat berpengaruh untuk kelangsungan hidup sel bakteri. Antibakteri dapat mengganggu biosintesis asam nukleat pada bakteri sehingga pada fase pertumbuhan bakteri juga terpengaruh. Antibakteri juga dapat menghambat proses sintesis protein. Sintesis protein adalah proses transkripsi dan translasi DNA pada bakteri yang merupakan bagian penting kelangsungan hidup bakteri (Febrianasari, 2018).

K. Kloramfenikol

Kloramfenikol berbentuk serbuk halus berupa jarum maupun lempeng memanjang, putih sampai putih kelabu maupun putih kekuningan. Kloramfenikol sukar larut pada air namun mudah larut pada etanol, propilen glikol, aseton serta etil asetat (Wasitaningrum, 2009). Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang memiliki aktivitas bakteristatik, serta pada dosis tinggi bersifat bakterisid. Kloramfenikol mempunyai nama kimia 1-(pnitrofenil)-dikloroasetamido- 1, 3- propandiol, rumus molekul $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ serta mempunyai struktur, (Struktur kloramfenikol Bisa dilihat pada gambar 4) :



Gambar 4. Struktur kloramfenikol ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$)
(Sumber : Sumardjo,2006)

Kloramfenikol menggambarkan senyawa antibiotik yang awal mulanya diisolasi dari *Streptomyces venezuelae*, namun saat ini bisa disintesis dari asam dikloroasetat. Antibiotik ini mempunyai spektrum luas yang aktif terhadap bakteri Gram positif serta Gram negatif aerob dan anaerob (Songer dan Post, 2005). *Escherichia coli* yang tidak direkayasa genetika (*wild type*) umumnya tidak dapat hidup jika ada

antibiotik seperti ampicilin dan kloramfenikol (Girard *et al.*, 2003) walaupun dengan antibiotik seperti amoxicillin pun sudah cukup (derivat dari ampicillin yang lebih rendah daya bunuhnya). Resistensi bakteri *Bacillus cereus* dan *Klebsiella pneumoniae* terhadap beberapa antibiotik menjadi masalah yang sangat serius. Penelitian oleh Bradeeba (2013) yang mengisolasi *Bacillus cereus* dari daging sapi menyatakan bahwa bakteri tersebut resisten terhadap penisilin, sulfametoksazol / trimethoprim, gentamisin, kanamisin, dan sulbaktam serta sensitive terhadap ampicilin, siprofloksasin, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, dan tetrasiklin. Hasil uji sensitivitas isolat *Bacillus cereus* masih sensitif terhadap antibiotik kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin dan klindamisin. Oleh karena itu, keempat antibiotik tersebut masih dapat digunakan untuk pengobatan infeksi akibat *Bacillus cereus* (Fatmasari, 2015).

Antibiotik yang digunakan untuk pengobatan infeksi *Klebsiella pneumoniae* adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas pertama yang digunakan secara luas. Pemberian kloramfenikol lebih dari 3g/hari akan menginduksi gangguan pada pematangan eritrosit, peningkatan kadar besi dalam serum dan anemia. Efek samping ini akan menghilang jika obat dihentikan. Penggunaan kloramfenikol pada ibu hamil dalam jangka panjang akan menyebabkan *grey baby syndrome*.

Mekanisme kerja kloramfenikol selaku antibakteri ialah dengan bereaksi pada bagian ribosom 50S, tempat antibiotika ini menghambat enzim peptidil transferase. Enzim inilah yang membatasi sintesis protein dengan membentuk ikatan peptida antara asam amino baru yang masih menempel pada tRNA-nya dengan asam amino terakhir pada peptida yang sedang tumbuh. Sebagai akibat penghalang ini, seluruh sintesis protein terhenti seketika (Songer serta Post., 2005).

Penelitian oleh Rahman dan Prihartini (2021) di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar, menunjukkan hasil uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* resisten terhadap penisilin G, ampicilin, amoksisilin, eritromisin, sefotaksim, dan levofloksasin karena tidak terdapat zona hambat yang terbentuk. Intermediet terhadap antibiotik gentamisin yaitu dengan zona hambat 13 mm dan sensitif pada antibiotik tetrasiklin yaitu dengan zona hambat 22 mm, fosfomisin 20 mm, dan kloramfenikol 23 mm sehingga baik digunakan untuk menghambat bakteri tersebut. Hasil

sensitivitas pada isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* antibiotik kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin dan klindamisin masih sensitif dan baik digunakan untuk menghambat bakteri tersebut.

L. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antimikroba memiliki tujuan untuk memperoleh bentuk pengobatan efektif dan efisien. Uji aktivitas digunakan agar dapat menentukan apakah adanya aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode, yakni metode difusi dan metode dilusi. menurut Saraswati (2015) diantaranya :

1. Metode Difusi

Metode *disk diffusion* (tes Kirby dan Baur). Metode ini menggunakan piringan yang berisi antibakteri lalu diletakkan pada media agar yang sudah ditanami bakteri sehingga antimikroba dapat berdifusi pada media agar. Bagian jernih pada media menandakan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh antibakteri

Metode *E-test* adalah metode untuk menghitung Kadar Hambat Minimum (KHM) yaitu suatu konsentrasi minimal dari antibakteri untuk menghambat bakteri. Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung antibakteri dari kadar rendah sampai kadar tertinggi, lalu diletakkan pada permukaan media yang telah ditanami bakteri. Area jernih menunjukkan adanya penghambatan dari antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri pada media agar.

Ditch-plate technique adalah metode yang menggunakan antibakteri dan diletakkan pada parit. Parit dibuat dengan cara memotong secara membujur media agar dalam cawan petri pada bagian tengah. Bakteri uji digoreskan ke arah parit.

Cup-plate technique merupakan metode serupa dengan *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

2. Metode Dilusi

Metode dilusi cair. Metode ini mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi hambat minimum (KBM). Cara ini dilakukan dengan membuat rangkaian pengenceran zat antibakteri dalam media cair yang ditambahkan bakteri uji. Larutan uji antibakteri pada kadar paling rendah tampak bening, setelah itu diberi label KHM.

Larutan KHM dikulturkan kembali dalam media cair tanpa penyemaian bakteri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair bening disebut KBM.

Metode dilusi padat. Metode ini mirip dengan metode dilusi cair, tetapi menggunakan media padat. Keuntungan dari metode ini adalah tidak perlu menyiapkan rentang konsentrasi larutan, hanya satu konsentrasi antibakteri yang cukup untuk menguji beberapa jenis bakteri.

M. Landasan Teori

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah di bidang kesehatan dan terus meningkat dari waktu ke waktu. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri. Penyakit infeksi yang umum terjadi di Indonesia yaitu diare yang disebabkan oleh bakteri. Kasus diare tertinggi adalah infeksi bawaan makanan dan air yang disebabkan oleh *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* dan *Shigella*. (Zein *et al.*, 2004).

Bacillus cereus adalah bakteri Gram positif yang menyebabkan keracunan dengan muntah dan diare. *Bacillus cereus* tersebar luas di alam dan sporanya lebih tahan terhadap cekaman lingkungan dibandingkan sel vegetatifnya (Bottone 2010). Purwanti *et al.* (2008) menemukan bahwa *Bacillus cereus* dalam makanan mentah dan susu tetap bertahan selama pemrosesan karena spora tahan panas dan dimasak secara normal.

Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi pernafasan dan bakteremia terutama pada individu yang daya tahan tubuhnya lemah (Schroll *et al.*, 2010). Mengatasi masalah infeksi tersebut sangat diperlukan penggunaan antibakteri atau antiinfeksi (Priyanto, 2008).

Penelitian sebelumnya oleh Suratman (2015) membuktikan bahwa adanya supernatan *Lumbricus rubellus* terhadap pertumbuhan bakteri Gram negatif penyebab demam tifoid, dengan nilai KHM 0,12 % dan nilai KBM 0,16 % dibanding dengan kloramfenikol 0,20 %. Penelitian yang dilakukan oleh Gita (2016) menunjukkan bahwa maserat asam asetat 50 % *Lumbricus rubellus* telah dapat menghambat

dan membunuh bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan KHM 0,125%v/v dan KBM 0,125%v/v.

Lumbricin merupakan senyawa golongan peptida alkaloid sehingga senyawa alkaloid yang dicurigai sebagai antimikroba. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *Lumbricus rubellus* mengandung enzim fibrinolitik (lumbrokinase), lumbrofebrin, lumbricin-1, peroksidase, katalase, dan selulose, yang berguna dalam menurunkan panas tubuh yang disebabkan infeksi (Palungkun, 2010). Kandungan kimia *Lumbricus rubellus* yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri adalah lumbricin-1. Lumbricin-1 adalah peptida yang bermuatan +1 yang dibentuk dari 10 asam amino bermuatan positif dan 9 asam amino yang bermuatan negatif (Cho *et al.*, 1998). Hasil dari penelitian Busman *et al.* (2018) membuktikan *Lumbricus rubellus* yang memiliki kandungan Lumbricin-1 dan alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Lumbricin-1 yang dapat digunakan sebagai bahan obat terutama sebagai antibakteri. Mekanisme senyawa aktif ini dalam menghambat bakteri dengan membuat pori di dinding sel bakteri sehingga menyebabkan sitoplasma sel bakteri menjadi terpapar dengan lingkungan luar yang dapat menyebabkan kematian bakteri (Suryani, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak *Lumbricus rubellus* yang telah diperiksa dapat disimpulkan sebagai berikut : Ada pengaruh konsentrasi *Lumbricus rubellus* terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dan *Bacillus cereus*. Konsentrasi ekstrak *Lumbricus rubellus* yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Bacillus cereus* adalah pada konsentrasi 100%; 90%; 80%; 70%; 60%; 50%; 40%; 30%; 20%.

N. Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah

Pertama, ekstrak *Lumbricus rubellus* dengan pelarut asam asetat 20%; 40%; 80% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*, dan *Klebsiella pneumoniae* berdasarkan diameter zona hambat menggunakan metode difusi.

Kedua, ketiga ekstrak *Lumbricus rubellus* yang dimaserasi dengan pelarut asam asetat 20%; 40% dan 80% mempunyai aktivitas antibakteri yang teraktif antara menghambat *Bacillus cereus* dan *Klebsiella pneumonia* .