

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing Tanah

Golongan cacing dalam klasifikasi makhluk hidup termasuk dalam filum Annelida. Annelida berasal dari kata *annulus* yang berarti cincin. Tubuh hewan golongan ini terdiri dari cincin-cincin atau segmen-segmen. Filum Annelida antara lain dibagi menjadi kelas Oligochaeta dan Polychaeta. Rambut yang keras dan pendek pada keluarga cacing dinamakan seta. Apabila pada tiap segmen ada banyak seta maka cacing dimasukkan dalam kelas Polychaeta dan bila seta sedikit masuk ke dalam kelas Oligochaeta. Kelas Polychaeta umumnya hidup di lautan dan banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan oleh masyarakat Kepulauan Maluku, Bangka Belitung dan Lombok. Kelas Oligochaeta misalnya adalah cacing tanah *Lumbricus sp.* dan cacing tanah *Eisenia foetida* (Simandjatak dan Waluyo, 1982).

Secara morfologi tubuh cacing tanah tersusun atas segmen-segmen berbentuk cincin, dan setiap segmen memiliki seta kecuali pada 2 segmen pertama. Cacing tanah memiliki mulut pada ujung anterior yang disebut prostomium. Secara umum organ kelamin jantan terdiri dari dua pasang testis, yang terletak pada segmen ke-10 dan 11. Sedangkan organ kelamin betina yaitu ovarium terletak pada segmen ke-13, setelah dewasa akan terjadi penebalan epitelium pada posisi segmen tertentu membentuk klitelium. Klitelium adalah tabung peranakan atau rahim (Roslim, 2013).

Kandungan protein cacing tanah termasuk tinggi, yakni sekitar 72% sehingga baik digunakan sebagai pakan ternak. Protein tersebut merupakan protein yang mengandung asam amino Arginin sebesar 10,17% dan Triptofan sebesar 4,14%. Dimana prosentase kandungan asam amino tersebut lebih besar

dari kadar Arginin pada kacang tanah dan ikan salem serta kadar Triptofan yang lebih besar dari hati sapi (Simandjuntak dan Waluyo, 1982).

Cacing tanah merupakan hewan hermaprodit yaitu mempunyai alat kelamin jantan dan betina sekaligus (*unisex*). Cacing tanah yang sudah dewasa kelamin memiliki klitellium yang berfungsi sebagai alat reproduksi. Klitellium juga merupakan penciri utama pembeda spesies cacing tanah yang berasal dari penebalan jaringan epitel permukaan dan mengandung banyak sekali sel-sel kelenjar. Sel-sel kelenjar tersebut menghasilkan sekreta yang menyerupai lendir. Sekreta tersebut berguna untuk pembentukan kokon serta pelindung pada saat embrio berkembang (Simandjuntak dan Waluyo, 1982).

2.1.1 Cacing Tanah *Lumbricus rubellus*

Cacing tanah *Lumbricus rubellus* merupakan hewan tingkat rendah yang tidak memiliki tulang belakang (*invertebrate*). Menurut Maulida (2015), taksonomi cacing *Lumbricus rubellus* sebagai berikut. Gambar 1. merupakan spesies *Lumbricus rubellus* dan kenampakan posterior dengan mikroskop stereo perbesaran 2 kali.

Kingdom	: Animalia
Filum	: Annelida
Kelas	: Clitellata
Ordo	: Oligochaeta
Famili	: Lumbricidae
Genus	: Lumbricus
Spesies	: <i>Lumbricus rubellus</i>



Gambar 1. Cacing Tanah *Lumbricus rubellus*

Cacing tanah jenis *Lumbricus rubellus* mempunyai bentuk tubuh bagian atas (dorsal) membulat dan bagian bawah (ventral) pipih, pada tubuhnya terdapat lendir yang dihasilkan oleh kelenjar epidermis yang mempermudah pergerakannya. Cincin atau segmen berjumlah 90-195 ruas dan klitelium pada segmen 27-32. Di bagian akhir tubuhnya terdapat anus untuk mengeluarkan sisa-sisa makanan dan tanah yang dimakannya. Ukuran tubuh *Lumbricus rubellus* relative kecil dengan panjang 4-7 cm. warna tubuh terutama bagian punggung berwarna coklat cerah sampai kemerahan, perut berwarna krem dan ekor berwarna kekuningan. Tubuh semi transparan dan elastis (Ciptanto, 2011).

Cacing tanah *Lumbricus rubellus* (dalam kondisi kering) memiliki kandungan protein tinggi (64-76%), lemak (7-10%), kalsium (0,55%), fosfor (1%), serat kasar (1,08%), dan auxin sebagai zat perangsang tumbuh untuk tanaman. Protein yang sangat tinggi terdiri dari setidaknya sembilan macam asam amino esensial dan empat macam asam amino non-esensial (Wulandari, 2010).

Tepung cacing tanah *Lumbriscus rubellus* mengandung protein tinggi yang setara dengan tepung ikan (55-60%) protein kasar. Analisis asam amino menunjukkan bahwa *Lumbriscus rubellus* mengandung asam amino esensial dan non esensial. Asam amino esensial didominasi oleh isoleusin, lisin, dan leusin. Asam amino non esensial didominasi oleh asam glutamate, dan serin. Tepung cacing tanah *Lumbriscus rubellus* mengandung kadar protein kasar 65,63% dan asam amino prolin sekitar 15% dari total asam amino (Hayati, 2011). *Lumbricus rubellus* mengandung bioaktif *lumbricin* yang mempunyai aktifitas antimikroba. *Lumbricin* merupakan golongan peptide antimikroba spectrum luas yang dapat menghambat bakteri g positif maupun negative (*broad spectrum*) dan bermuatan positif (Cho *et al.*,1998). Peptida bermuatan positif diketahui dapat secara langsung mempengaruhi sintesis makromolekul karena menimbulkan kerusakan depolarisasi dinding sel (Hancock dan Rozek, 2002). Mekanisme kerja *lumbricin*

yaitu dengan menyebabkan perubahan mekanisme permeabilitas membrane sehingga sel mengalami lisis (Damayanti, 2009).

2.1.3 Cacing Tanah *Eisenia foetida*

Cacing tanah *Eisenia foetida* merupakan hewan tingkat rendah dan tidak bertulang belakang (invertebrata) yang hidup dalam tanah. *E. foetida* memiliki nama lokal cacing tiger atau cacing macan karena kenampakan kulitnya yang belang-belang. Klasifikasi *Eisenia foetida* menurut Permata (2006), adalah sebagai berikut. Gambar 2. Merupakan cacing *Eisenia foetida* dan kenampakan posterior dengan perbesaran 2 kali menggunakan mikroskop stereo.

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Annelida
Kelas	: Clitellata
Sub Kelas	: Oligochaeta
Ordo	: Haplotaxiada
Sub Ordo	: Lumbricina
Famili	: Lumbricidae
Genus	: <i>Eisenia</i>
Spesies	: <i>Eisenia foetida</i>



Gambar 2. Cacing Tanah *Eisenia foetida*

Cacing *Eisenia foetida* memiliki ujung ekor pipih, bagian dorsal berwarna merah muda, bagian ventral berwarna putih kemerahan dan ekor berwarna orange. Panjang tubuh *Eisenia foetida* sekitar tujuh cm dengan diameter tiga mm. Bobot hidup *Eisenia foetida* sekitar 0,26-0,55 g/ekor (Yuliprianto, 1994).

Klitelium *Eisenia foetida* terletak pada segmen ke 24, 25, 26, 27 dan segmen tubuhnya berjumlah 90-105. Klitelium *Eisenia foetida* berbentuk sadel dan jumlah setanya sedikit. *Eisenia foetida* dapat mencapai dewasa kelamin

pada umur 48 hari. Caing tana *Eisenia foetida* dapat memproduksi 14 butir kokon selama 70 hari (rata-rata menghasilkan lima kokon setiap hari). Jumlah anak cacing yang menetas berkisar antara 1-7 ekor (Permata, 2006).

2.2 Cacing Laut *Nereis sp.*

Cacing laut merupakan golongan polychaeta yang termasuk dalam filum annelida. Polychaeta memiliki ciri-ciri antara lain tubuh bersegmen, kolon terbagi dalam septa, dan memiliki banyak bulu kaku (Kuncoro, 2004). Cacing *Nereis sp.* memiliki nama lokal "lur" dan banyak budidaya cacing lur yang biasanya dipasok untuk dimanfaatkan sebagai pakan udang. Kedudukan taksonomi cacing laut *Nereis sp.* menurut Wilson dan Ruff, (1988) adalah sebagai berikut.

Filum	: Annelida
Kelas	: Polychaeta
Ordo	: Phyllodocida
Famili	: Nereidae
Genus	: <i>Nereis</i>
Spesies	: <i>Nereis sp.</i>



Gambar 3. Cacing Laut *Nereis sp.*

Cacing laut *Nereis sp.* merupakan golongan Polychaeta. Hewan bentos ini banyak ditemukan di dalam lumpur berpasir di kawasan pantai. Cacing lur (*Nereis sp.*) banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan dan udang karena mempunyai nilai gizi yang cukup baik sebagai bahan alternative selain tepung ikan (Abida, 2012).

Senyawa antibakteri yang telah ditemukan pada cacing laut *Nereis diversicolor* adalah hedistin yang telah diidentifikasi dari selomosit cacing *Nereis*

diversicolor. Hedistin tidak memiliki kesamaan dengan jenis peptida yang umum diketahui serta merupakan senyawa peptida antimikroba pertama pada annelida yang mengandung bromotriptofan. Pengujian antimikroba senyawa hedistin menunjukkan bahwa senyawa ini mampu melawan antibakteri berspektrum luas termasuk bakteri resisten metisilin seperti *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* (Tasiemski *et al.*, 2007).

2.3 AMPs (Antimicrobial Peptides)

Tasiemski *et al.*, (2007) menyatakan bahwa *antimicrobial peptides* (AMPs) dilaporkan terlibat dalam banyak aspek pertahanan inang bawaan termasuk fungsi fagosit, pembunuhan mikroba secara lokal dan sistemik pada hewan invertebrata dan vertebrata. AMPs merupakan kelompok molekul yang besar, yang dapat dibagi menjadi beberapa kelas yang berbeda sesuai struktur dan komposisi asam aminonya. Dalam organisme laut, banyak AMPs telah ditandai tidak hanya untuk meningkatkan pengetahuan kita tentang kekebalan, tetapi juga untuk kemungkinan pengembangan pengobatan infeksi bakteri yang mempengaruhi akuakultur. Dua cara melawan infeksi oleh AMPs berbeda muncul pada annelida (i) regional transkripsi yang cepat dari gen yang mengkodekan AMPs, terutama pada jaringan tertentu, setelah cedera septik dan pelepasan cepat ke hemolimfa senyawa antimikroba di Lintah *T. Tessulatum* dan (ii) produksi dan penyimpanan konstitutif zat antimikroba, terutama pada koelomosit, dan pelepasan peptida ke dalam cairan koelomik setelah tantangan kekebalan pada polychaeta dan oligochaeta annelida.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif yang terkandung dalam suatu bahan menggunakan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya (Yuliani dan Satuhu, 2012). Ekstraksi yang digunakan dalam

penelitian ini adalah ekstraksi dari fase padat ke cair. Rohman (2013) mengemukakan bahwa ekstraksi padat-cair merupakan prosedur yang sederhana karena hanya melibatkan pemilihan pelarut atau kombinasi pelarut yang ideal untuk melarutkan secara sempurna analit yang akan dianalisis dan hanya sedikit melarutkan senyawa lain yang akan mengganggu analisis lebih lanjut. Warbung *et al.*, (2013) mengemukakan bahwa proses penguapan atau evaporasi dapat memengaruhi kemampuan senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penelitian ini menggunakan ekstraksi dengan metode maserasi evaporasi.

Maserasi berasal dari kata bahasa latin *macerare* yang berarti perendaman, sehingga maserasi adalah proses ekstraksi dengan cara perendaman sampel menggunakan pelarut organik dengan beberapa kali pengocokan dan pengadukan pada temperatur ruangan. Teknik maserasi digunakan terutama jika senyawa organik metabolit sekunder yang ada dalam bahan tersebut cukup banyak persentasinya dan ditemukan suatu pelarut yang dapat melarutkan senyawa tersebut tanpa dilakukan pemanasan. Proses ini sangat menguntungkan karena dengan proses perendaman, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, kemudian ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan bahan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam yang terdapat dalam pelarut tersebut (Harborne, 1987; Pasaribu, 2009; Dewi, 2010).

Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi

pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Evaporasi senyawa aktif juga disebut metode reflux. Pada metode reflux, menurut Mukhriani (2014), sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.

2.5 Pelarut Etanol

Etanol menurut Wiratmaja *et al.*, (2011), merupakan senyawa alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH yang berupa zat cair jernih tidak berwarna, berbau khas, mudah terbakar, berfase cair pada suhu ruang, mudah menguap, dan mudah bercampur dengan air. Etanol dapat dihasilkan dari proses alami seperti fermentasi. Sifat kimia dan fisika Etanol menurut Khamdiyah (2010) dapat dilihat di Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Kimia dan Fisika Etanol

Sifat Kimia dan Fisika	Keterangan
Berat Molekul	46
Kepadatan	0,791 g/mL
Titik Lebur	-117,3 °C
Titik Didih	78,3 °C
Titik Bakar	21 °C
Titik Nyala	372 °C
Batas Ledak Atas	19% v/v

Batas Ledak Bawah	3,5% v/v
-------------------	----------

Sumber : Khamdiyah, (2010)

Etanol atau etil alkohol, digambarkan sebagai salah satu oksigen sintetis yang paling eksotis yang mengandung senyawa kimia organik karena kombinasi sifat yang unik dapat dimanfaatkan sebagai pelarut, antimikroba, minuman, zat anti pembekuan, bahan bakar. Etil alkohol pada kondisi umum bersifat mudah menguap, mudah terbakar, jernih dan merupakan cairan yang tidak berwarna (*colorless*). Etanol memiliki bau yang khas, familiar dan memiliki ciri khas rasa ketika dicampurkan dengan air (Kirk *et al.*,1980).

2.6 Uji NanoDrop

NanoDrop merupakan alat yang digunakan untuk mengetahui nilai absorbansi larutan. Alat sangat sensitif dan hanya membutuhkan volume sampel sebesar 2 μ l untuk tiap kali pengukuran. Beberapa tipe pengukuran sampel, antara lain: asam nukleat (DNA/RNA), microarray, protein A280, protein dan labels, BCA, modified Lowry, Bradford, dan Pierce 660 nm. Lama waktu pengukuran absorbansi yang relatif singkat (kurang dari 5 detik) tiap sampel akan mempersingkat waktu dalam pengukuran (Rahayu, 2000).

Spektrofotometer NanoDrop memiliki kemampuan untuk mengukur sampel antara 50 dan 200 kali lebih pekat daripada sampel yang diukur menggunakan cuvet standar berukuran 1 cm. Metode Protein A280 berlaku untuk protein yang dimurnikan yang mengandung residu *Trp*, *Tyr* atau ikatan disulfida Cys-Cys dan absorbansi pada 280 nm. Metode ini tidak mensyaratkan regenerasi kurva standar dan siap untuk mengukur kuantitas sampel protein pada saat *startup software*. Tes *Colorimetric* seperti *BCA*, *Pierce 660 nm*, *Bradford*, dan *Lowry* memerlukan kurva standar dan lebih umum digunakan bukan untuk solusi penggolongan protein dan sel *lysate* (Thermo Fisher Scientific, 2010).

2.7 Uji Kjeldahl

Kjedahl merupakan metode yang sederhana untuk penetapan nitrogen total pada protein dan senyawa yang mengandung nitrogen. Metode ini telah banyak mengalami modifikasi. Metode ini cocok digunakan secara semi mikro, sebab hanya membutuhkan jumlah sampel dan pereaksi yang sedikit serta waktu analisis yang pendek. Metode kjeldahl cocok dilakukan untuk menetapkan kadar protein yang tidak larut atau protein yang sudah mengalami koagulasi akibat proses pemanasan maupun proses pengolahan lain (Bakhtra *et al.*, 2016).

Prinsip kerja dari metode kjeldhal menurut Apriyantono *et al.*, (1989), adalah berdasarkan hasil penelitian diasumsikan bahwa 16% dari protein adalah unsur nitrogen sehingga penentuan protein dengan metode Kjeldhal didasarkan pada total N yang kemudian dikalikan dengan faktor pengendali 6,24. Penentuan kadar protein dengan metode ini adalah dengan mencernakan sampel dengan pelarut pekat, sehingga N dalam protein akan terurai membentuk garam. Kemudian ditambahkan alkali kuat sehingga akan membentuk NH_3 yang didestilat dan ditampung dalam H_3BO_3 , selanjutnya dititrasi dengan asam standart yaitu HCl.

2.8 Kadar Air

Kadar air dalam bahan pangan dapat di tentukan dengan berbagai cara antara lain metode pengeringan (*thermogravimetri*). Prinsip dari metode pengeringan adalah menguapkan air yang ada dalam bahan pangan dengan jalan pemanasan kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air sudah diuapkan (Sudarmadji *et al.*, 2007).

Penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu $105-110^{\circ}$ selama 3 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang

diuapkan (Winarno, 1984). Pengujian kadar air juga dilakukan untuk menentukan kadar protein *dry base* dari pengujian kjeldahl.

2.9 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Pengujian HPLC mengacu pada metode yang digunakan oleh Laboratorium Kimia Terpadu, Institut Pertanian Bogor (2017). Ciri teknik HPLC adalah penggunaan tekanan tinggi untuk mengirim fase gerak ke dalam kolom. Dengan memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan dengan besar (Veronica *et al.*, 1999). Nollet (2000), menyatakan bahwa metode HPLC bekerja dengan cara memisahkan campuran menjadi komponen-komponen penyusunnya. Setelah itu dilakukan analisa kualitatif dan kuantitatif untuk mengetahui jenis senyawa penyusun campuran dan kadarnya.

HPLC secara umum memiliki dua fase yaitu fase stasioner yang sesuai sehingga memungkinkan untuk pemisahan campuran. Fase stasioner berupa partikel stainless steel yang sangat kecil dan dipasang pada kolom HPLC. Fase gerak pada HPLC merupakan fase yang terus mengalir melalui fase diam dan membawa analit melewati fase tersebut. Komposisi fase gerak yang digunakan bergantung pada fase diam dan sifat senyawa yang dianalisis. Sifat pelarut yang berbeda menentukan apakah suatu bahan sesuai untuk digunakan sebagai fase gerak baik dalam fase terbalik maupun dalam fase normal (Mcpolin, 2009).