

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Ekstrak Kasar Cacing dengan Pelarut Etanol

Ekstrak kasar cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Eisenia foetida* memiliki warna coklat kehitaman dan bau amis. Ekstrak cacing laut *Nereis sp.* memiliki warna hijau pekat kehitaman dan bau amis yang menyengat. Tabel 2 menunjukkan kenampakan ekstrak cacing tanah dan cacing laut.

Tabel 2. Hasil Pembuatan Ekstrak Cacing Pelarut Etanol

No	Ekstrak Etanol	Foto Ekstrak	Berat	Prosentase pelarut yang terevaporasi
1	<i>Lumbricus rubellus</i>		6,3 g	97 %
2	<i>Eisenia foetida</i>		6,9 g	93,75 %
3	<i>Nereis sp.</i>		6,92 g	94,28 %

Maserasi tepung cacing tanah *Lumbriscus rubellus* 50 g dengan pelarut etanol 375 mL dan maserasi kedua yaitu residu ditambah 125 mL etanol diperoleh ekstrak sebesar 6,3 g. Efisiensi evaporasi sebesar 97% dimana filtrat sebelum dievaporasi sebesar 400 mL dan setelah dievaporasi diperoleh pelarut sebesar 388 mL. Kenampakan ekstrak yang diperoleh berwarna coklat kehitaman, kental, dan amis.

Hasil maserasi tepung cacing tanah *Eisenia foetida* 50 g dengan pelarut etanol 375 mL dan maserasi kedua yaitu residu ditambah 125 mL etanol

diperoleh ekstrak sebesar 6,9 g. Efisiensi evaporasi sebesar 93,75% dimana filtrat sebelum dievaporasi sebesar 320 mL dan setelah dievaporasi diperoleh 300 mL. Kenampakan ekstrak yang diperoleh berwarna coklat kehitaman, kental, dan amis.

Sedangkan kenampakan ekstrak cacing laut *Nereis sp.* yakni berwarna hijau pekat kehitaman, kental, dan berbau amis menyengat. Hasil maserasi pertama 50 g tepung cacing laut *Nereis sp.* dengan pelarut etanol 375 mL dan maserasi kedua yaitu residu ditambah 125 mL etanol menghasilkan ekstrak sebesar 6,92 g. Efisiensi evaporasi sebesar 94,28% dimana filtrat sebelum dievaporasi sebesar 350 mL dan setelah dievaporasi diperoleh pelarut sebesar 300 mL.

Perhitungan pelarut yang ter-evaporasi dapat dilihat pada Lampiran 14. Berdasarkan hasil perhitungan efisiensi pelarut pada ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* sebesar 97%, *Eisenia foetida* sebesar 93,75%, dan cacing laut *Nereis sp.* sebesar 94,28% dapat diasumsikan bahwa residu pelarut yang tersisa pada ekstrak cacing tanah dan *Lumbricus rubellus* sebesar 3%, *Eisenia foetida* sebesar 6,25%, sedangkan residu pelarut pada ekstrak kasar cacing laut *Nereis sp.* yaitu 5,72%. Sebagai uji penegasan residu pelarut pada ekstrak kasar, dilakukan uji kadar residu pelarut menggunakan metode termogravimetri. Perhitungan residu pelarut dapat dilihat pada Lampiran 15.

4.2 Uji NanoDrop

Uji NanoDrop dilakukan untuk menentukan konsentrasi protein. NanoDrop berfungsi seperti spektrofometri pada umumnya, namun pada NanoDrop hanya menggunakan sampel yang sangat sedikit (1-2 μ L) dan konsentrasi protein dapat langsung terlihat pada layar komputer dengan menggunakan *software*. Hasil dari pengujian NanoDrop dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji NanoDrop

Sampel	Spesies	Ulangan (mg/ml)			Rerata (mg/ml)	St.dev
		1	2	3		
Tepung	<i>Lumbricus rubellus</i>	28.08	28.07	28.09	28.080	±0.0100
	<i>Eisenia foetida</i>	27.84	27.83	27.85	27.840	±0.0100
	<i>Nereis sp.</i>	18.99	19.01	18.99	18.997	±0.0115
Ekstrak	<i>Lumbricus rubellus</i>	14.92	14.96	15.05	14.977	±0.0666
	<i>Eisenia foetida</i>	16.81	16.72	16.83	16.787	±0.0586
	<i>Nereis sp.</i>	13.64	13.68	13.67	13.663	±0.0208

Dari data uji NanoDrop di atas dapat diketahui bahwa konsentrasi protein sampel tepung *Lumbricus rubellus* sebesar 28,08 mg/ml mengalami penurunan ketika diekstrak menjadi 14,978 mg/ml. Penurunan ini terjadi pada ketiga sampel tepung saat diekstrak menggunakan pelarut etanol. Pada sampel tepung *Eisenia Foetida* konsentrasi protein sebesar 27,840 mg/ml mengalami penurunan menjadi 16,789 mg/ml ketika diekstrak. Begitu pula pada sampel *Nereis sp.*, konsentrasi protein tepung sebesar 18,998 mg/ml mengalami penurunan menjadi 13,663 mg/ml ketika diekstrak. Penurunan kadar protein dipengaruhi oleh perlakuan selama proses ekstraksi dan penyimpanan sampel. Penurunan konsentrasi protein ini juga terjadi karena penggunaan pelarut etanol 96% yang berpengaruh pada koagulasi protein.

Protein bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan larutan asam dan basa. Daya larut protein berbeda di dalam air, asam, dan basa. Ada yang mudah larut dan ada yang sukar larut. Namun, semua protein tidak larut dalam pelarut lemak seperti eter dan kloroform. Apabila protein dipanaskan atau ditambah etanol absolut, maka protein akan menggumpal (terkoagulasi). Hal ini disebabkan etanol menarik mantel air yang melingkupi molekul-molekul protein. Kelarutan protein di dalam suatu cairan, sesungguhnya sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, pH, suhu, kekuatan ionik dan konstanta dielektrik pelarutnya (Jalip, 2008).

4.3 Uji Kjeldahl

Pengujian kjeldahl untuk menentukan total N pada sampel. *Dry base protein* diperoleh dari *wet base protein* dibagi dengan sisa kadar air (100% - %kadar air) lalu dikali 100%. Hasil pengujian kjeldahl dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Kjeldahl

Jenis	Spesies	Kjeldahl (% wet base)	Kadar air	Sisa k.air	Dry base protein	
Tepung	<i>Lumbricus rubellus</i>	62.68	6.5	93.5	0.67	67%
	<i>Eisenia foetida</i>	55.77	6.8	93.2	0.598	59.80%
	<i>Nereis sp.</i>	46.61	7.3	92.7	0.502	50.20%
Ekstrak	<i>Lumbricus rubellus</i>	14.88	34.21	65.79	0.23	23%
	<i>Eisenia foetida</i>	15.79	34.11	65.89	0.24	24%
	<i>Nereis sp.</i>	11.4	35.8	64.2	0.18	18%

Dari data di atas dapat diketahui bahwa kadar protein tepung tertinggi terdapat pada cacing *Lumbricus rubellus* yaitu 67% dan terendah pada cacing *Nereis sp.* yaitu 50,2%. Sedangkan kadar protein ekstrak kasar tertinggi diperoleh 24% pada ekstrak kasar *Eisenia foetida* dan terendah sebesar 18% pada ekstrak kasar *Nereis sp.* Jika dibandingkan antara tepung dan ekstrak kasar maka ketiga spesies cacing mengalami penurunan kadar protein ketika diekstrak menggunakan etanol 96%.

Menurut Masyitoh *et al.*, (2017), etanol merupakan alkohol rantai lurus dengan rumus molekul C_2H_5OH . Aquades dan etanol merupakan larutan yang sama-sama polar. Keduanya dapat melarutkan protein karena keduanya mampu membentuk ikatan hidrogen yang dengan mudah dapat terbentuk bila atom H terikat dengan atom elektronegatif seperti O dan N, namun jumlah ikatan hidrogen aquades lebih banyak dibandingkan dengan etanol karena pada etanol terdapat ikatan hidrokarbon yang tidak dapat membentuk ikatan hidrogen dan kepolaran rantai hidrokarbon sangat rendah sehingga tidak dapat mengikat protein. Beberapa fakta juga mengatakan bahwa beberapa senyawa organik

dengan gugus hidroksil -OH atau gugus amina -NH₂ (contohnya protein) relatif lebih larut dalam air karena pembentukan ikatan hidrogen dengan molekul air yang sangat kuat, sehingga protein sebagian besar dapat larut pada aquades sehingga didapat pita protein yang lebih banyak daripada ekstrak etanol daun mimba.

Kadar protein kasar tepung cacing tanah *Lumbriscus rubellus* dalam penelitian yang dilakukan oleh Hayati (2011), diperoleh hasil sebesar 65,63%. Sedangkan uji kjeldahl tepung *Lumbriscus rubellus* memperoleh hasil 67% dan ekstrak kasar *Lumbriscus rubellus* 23%. Menurut Waluyo (1993), kadar protein *Eisenia foetida* dengan perlakuan penambahan kapur adalah 66,09% dan tanpa penambahan kapur 63,43%. Sedangkan uji kjeldahl tepung *Eisenia foetida* memperoleh hasil 59,8% dan ekstrak kasar *Eisenia foetida* 24%. Untuk tepung cacing laut *Nereis sp.*, dalam penelitian Yuwono *et al.*, (2005), memperoleh kadar protein sebesar 52,26%. Sedangkan uji kjeldahl tepung *Nereis sp.* memperoleh hasil 50,2% dan ekstrak kasar *Nereis sp.* 18%. Sehingga dapat diketahui bahwa penggunaan pelarut etanol berpengaruh pada penurunan prosentase protein. Untuk data pengulangan uji kjeldahl dapat dilihat pada lampiran 16.

4.4 Uji Kadar Air

Penentuan kadar air dalam sampel ekstrak kasar cacing dilakukan dengan menggunakan prinsip *thermogravimetri*. Air yang hilang pada pengovenan diasumsikan sebagai pelarut yang menguap, sehingga dengan melakukan uji kadar air ini, juga dapat diketahui kadar pelarut yang tertinggal pada sampel ekstrak kasar setelah dipisahkan dengan *rotary evaporator*. Uji kadar air juga dilakukan untuk mengetahui kadar berat kering protein (*dry base protein*). Hasil pengujian kadar air dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Kadar Air

Sampel	Spesies	Ulangan (%)			Rerata (%)	St.dev
		1	2	3		
Tepung	<i>Lumbricus rubellus</i>	6.6	6.3	6.6	6.5	±0.1732
	<i>Eisenia foetida</i>	6.8	6.7	6.9	6.8	±0.1
	<i>Nereis sp.</i>	7.6	7.5	7.8	7.6	±0.1528
Ekstrak	<i>Lumbricus rubellus</i>	34.15	34.24	34.24	34.21	±0.0520
	<i>Eisenia foetida</i>	34.09	34.12	34.12	34.11	±0.0173
	<i>Nereis sp.</i>	35.4	35.9	36.1	35.8	±0.3606

Dari hasil ini dapat diketahui bahwa kadar air tertinggi terdapat pada *Nereis sp.*, baik sampel tepung maupun ekstrak kasar yaitu masing-masing sebesar 7,3% dan 35,8%. Pada tepung *Eisenia foetida* kadar air sebesar 6,8% dan pada ekstrak kasar *Eisenia foetida* kadar pelarut yang tersisa sebesar 35,1%. Sedangkan tepung dan ekstrak kasar *Lumbricus rubellus* mengandung kadar pelarut terendah yaitu masing-masing sebesar 6,5 dan 34,21%.

4.5 Analisis Asam Amino dengan HPLC

High Performance Liquid Chromatography merupakan kromatografi menggunakan fase gerak cair. Penggunaan HPLC ini bertujuan untuk mengetahui profil asam amino pada ekstrak kasar ketiga jenis cacing. Hasil analisis asam amino dengan HPLC dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji HPLC

Spesies	Kandungan Total Asam Amino (%)	
	Tepung	Ekstrak Kasar
<i>Lumbricus rubellus</i>	45,16	7,45
<i>Eisenia foetida</i>	40,30	8,15
<i>Nereis sp.</i>	29,51	5,43

Dari data di atas dapat diketahui bahwa pada sampel tepung, *Lumbricus rubellus* memiliki nilai asam amino tertinggi yaitu 45,16% dan *Nereis sp.* memiliki nilai asam amino terendah sebesar 29,51%. Sedangkan pada sampel ekstrak kasar, nilai tertinggi terdapat pada *Eisenia foetida* yaitu 8,15% dan terendah pada *Nereis sp.* yaitu 5,43%. Pada ketiga jenis cacing, jumlah asam amino sampel tepung mengalami penurunan ketika menjadi sampel ekstrak kasar. Hal

ini disebabkan oleh deaminasi dan metode maserasi bertingkat yang membutuhkan jumlah pelarut yang besar dan waktu yang lama.

Kerusakan asam amino disebabkan oleh deaminasi. Sesuai yang dikemukakan oleh Tasiemski *et al.*, (2007), deaminasi adalah suatu reaksi kimiawi pada metabolisme yang melepaskan gugus amina dari molekul senyawa asam amino. Mukhriani (2014) menambahkan metode maserasi juga dapat menimbulkan hilangnya bahan aktif karena, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang.

Adapun urutan asam amino cacing tanah *Lumbricus rubellus*, *Eisenia foetida* dan cacing laut *Nereis sp.* dengan pelarut etanol dapat dilihat pada Tabel 7, Tabel 8, dan Tabel 9.

Tabel 7. Urutan Asam Amino *Lumbricus rubellus*

No	<i>Lumbricus rubellus</i>		Selisih
	Tepung (%)	Ekstrak Kasar (%)	
1	asam glutamat (7,30)	asam glutamat (1,61)	5,69
2	asam aspartat (5,00)	alanin (0,82)	4,18
3	lisin (4,65)	leusin (0,77)	3,88
4	leusin (4,30)	asam aspartat (0,72)	3,58
5	arginin (3,58)	valin (0,54)	3,04
6	valin (2,88)	glisin (0,52)	2,36
7	alanin (2,86)	felilalanin (0,46)	2,4
8	isoleusin (2,65)	isoleusin (0,44)	2,21
9	felilalanin (2,46)	lisin (0,35)	2,11
10	treonin (2,21)	arginin (0,29)	1,92
11	glisin (2,10)	tirosin (0,26)	1,84
12	serin (1,58)	treonin (0,22)	1,36
13	tirosin (1,52)	serin (0,19)	1,33
14	histidin (1,22)	histidin (0,16)	1,06
15	metionin (0,83)	metionin (0,08)	0,75

Berdasarkan data pada Tabel 7 diperoleh hasil asam amino dominan pada sampel tepung dan ekstrak kasar *Lumbricus rubellus* adalah asam glutamat, dimana pada sampel tepung sebesar 7,30% dan ekstrak kasar sebesar 1,61%. Sedangkan untuk hasil asam amino pada sampel tepung ketika diekstrak

mengalami penurunan kuantitas pada setiap jenisnya. Hal ini disebabkan oleh penggunaan pelarut etanol yang dapat mengkoagulasi protein dan metode maserasi yang lama.

Tabel 8. Urutan Asam Amino *Eisenia foetida*

No	<i>Eisenia foetida</i>		Selisih
	Tepung (%)	Ekstrak Kasar (%)	
1	asam glutamat (7,18)	asam glutamat (1,83)	5,35
2	asam aspartat (4,91)	alanin(0,95)	3,96
3	leusin (4,23)	leusin (0,86)	3,37
4	lisin (3,54)	asam aspartat (0,77)	2,77
5	arginin (3,20)	valin (0,60)	2,60
6	valin (2,85)	glisin (0,59)	2,26
7	alanin (2,79)	isoleusin (0,56)	2,23
8	felilalanin (2,45)	felilalanin (0,51)	1,94
9	treonin (1,93)	arginin (0,29)	1,64
10	glisin (1,86)	tirosin (0,28)	1,58
11	serin (1,57)	lisin (0,27)	1,30
12	tirosin (1,46)	treonin (0,23)	1,23
13	histidin (1,23)	serin (0,21)	1,02
14	metionin (0,91)	histidin (0,17)	0,74
15	isoleusin (0,20)	metionin (0,06)	0,14

Berdasarkan data pada Tabel 8 diperoleh hasil asam amino dominan pada sampel tepung dan ekstrak kasar *Eisenia foetida* adalah asam glutamat, dimana pada sampel tepung sebesar 7,18% dan ekstrak kasar sebesar 1,83%. Sedangkan untuk hasil asam amino pada sampel tepung ketika diekstrak mengalami penurunan kuantitas pada setiap jenisnya. Hal ini disebabkan oleh penggunaan pelarut etanol yang dapat mengkoagulasi protein dan metode maserasi yang lama.

Tabel 9. Urutan Asam Amino *Nereis sp.*

No	<i>Nereis sp.</i>		Selisih
	Tepung (%)	Ekstrak kasar (%)	
1	asam glutamat (5,08)	glisin (1,23)	3,85
2	asam aspartat (3,54)	alanin (1,08)	2,46
3	leusin (2,66)	asam glutamat (0,76)	1,90
4	arginin (2,32)	leusin (0,39)	1,93
5	lisin (2,27)	valin (0,32)	1,95
6	alanin (2,17)	lisin (0,26)	1,91
7	isoleusin (1,82)	isoleusin (0,25)	1,57
8	valin (1,72)	felilalanin (0,25)	1,47
9	glisin (1,50)	treonin (0,20)	1,30
10	felilalanin (1,49)	asam aspartat (0,19)	1,30
11	treonin (1,34)	serin (0,16)	1,18
12	serin (1,14)	metionin (0,11)	1,03
13	tirosin (1,09)	tirosin (0,10)	0,96
14	histidin (0,73)	histidin (0,07)	0,66
15	metionin (0,64)	arginin (0,06)	0,58

Berdasarkan data pada Tabel 9 diperoleh hasil asam amino dominan pada sampel tepung *Nereis sp.* adalah asam glutamate yaitu sebesar 5,08% dan ekstrak kasar adalah glisin sebesar 1,23%. Sedangkan untuk hasil asam amino pada sampel tepung ketika diekstrak mengalami penurunan kuantitas pada setiap jenisnya. Hal ini disebabkan oleh penggunaan pelarut etanol yang dapat mengkoagulasi protein dan metode maserasi yang lama.

Hasil perbandingan antara asam amino pada tepung menunjukkan bahwa semua asam amino mengalami penurunan kuantitas ketika diekstrak dengan etanol, akan tetapi tidak mengalami penurunan ragam. Melalui data pada Tabel 7, Tabel 8, dan Tabel 9 dapat dianalisa bahwa pelarut etanol mampu menarik asam amino esensial dan non esensial. Pembagian asam amino hasil uji HPLC dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Asam Amino Esensial dan Non Esensial

No	Asam Amino Esensial	Asam amino Non Esensial
1	Histidin	Alanin
2	Isoleusin	Arginin
3	Leusin	Asam aspartat
4	Lisin	Asam glutamat
5	Methionine	Serin
6	Fenilalanin	Glisin
7	Treonin	Tirosin
8	Valin	

4.6 Komposisi Asam Amino pada AMPs

4.6.1 AMPs pada *Lumbricus rubellus*

AMPs (*Antimicrobial peptides*) tersusun atas beberapa asam amino dengan urutan spesifik. Berikut asam amino penyusun AMPs *Lumbricus rubellus* dibandingkan dengan hasil analisa HPLC dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Asam amino penyusun AMPs *Lumbricus rubellus*

Asam amino hasil HPLC ekstrak kasar <i>Lumbricus rubellus</i>	Nama peptida	Urutan asam amino	Keterangan	Referensi
Asam glutamat, asam aspartat, leusin, arginin, alanin, lisin, valin, isoleusin, treonin, felilalanin, glisin, serin, tirosin, histidin, metionin	<i>Lumbricin-Ia</i>	Phe-Ser-Lys-Tyr-Glu-Arg	Sesuai	
	<i>Lumbricin-Ib</i>	Gln-Lys-Asp-Lys-Arg-Pro-Tyr-Ser-Glu-Arg-Lys-Tyr-Asn-Gln-Tyr-Thr-Gly	Tidak sesuai (prolin tidak muncul pada uji HPLC)	
	<i>Lumbricin-Ic</i>	Pro-Gln-Phe-Leu-Tyr-Pro-Pro-Glu-Arg-Ile-Pro-Pro-Gln-Lys-Val-Ile	Tidak sesuai (prolin tidak muncul pada uji HPLC)	Cho et al., (1998)
	<i>Lumbricin-I d</i>	Lys-Trp-Asn-Glu-Glu-Gly-Leu-Pro-Ile-Tyr-Glu-Ile-Pro-Gly-Glu-Gly	Tidak sesuai (triptofan, prolin, dan asparagin tidak muncul pada uji HPLC)	
	<i>Lumbricin-I d</i>	Gly-His-Ala-Glu-Pro-Ala-Ala-Ala	Tidak sesuai (prolin tidak muncul pada uji HPLC)	

Berdasarkan analisa di atas dapat diketahui bahwa asam amino yang muncul pada uji asam amino cacing tanah *Lumbricus rubellus* menggunakan HPLC telah sesuai dengan asam amino penyusun *Lumbricin-I a* akan tetapi belum sesuai dengan asam amino penyusun AMPs *Lumbricin-I* lainnya karena pada hasil uji HPLC tidak ditemukan adanya prolin sedangkan AMPs *Lumbricin-I* tersusun atas asam amino prolin. Urutan asam amino penyusun *Lumbricin-I a* yaitu fenilalanin, serin, lisin, tirosin, asam glutamat dan arginin. Urutan asam amino penyusun *Lumbricin-I a* mulai dari yang paling dominan pada uji HPLC yaitu asam glutamat, arginin, lisin, fenilalanin, serin, dan tirosin.

4.6.2 AMPs pada *Eisenia foetida*

Asam amino penyusun AMPs *Eisenia foetida* dibandingkan dengan hasil analisa HPLC dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Asam amino penyusun AMPs *Eisenia foetida*

Asam amino hasil HPLC <i>Eisenia foetida</i> tepung dan ekstrak kasar etil asetat	Nama peptida rantai pendek	Urutan asam amino	Keterangan	Referensi
Asam glutamat, alanin, leusin, asam aspartat, valin, glisin, isoleusin, felilalanin, arginin, tirosin, lisin, treonin, serin, histidin, metionin	Fetidin 1	Ac-Ala-Met-Val-Ser-Ser	Sesuai	Zhang et al., (2002)
	Fetidin 2	Ac-Ala-Met-Val-Gly-Thr	Sesuai	Zhang et al., (2002)
	ECP5-1	Ala-Cys-Ser-Ala-Gly	Tidak sesuai (sistein tidak muncul pada uji HPLC)	Liu et al., (2004)
	OEP3121	Ala-Cys-S2r-Ala-Gly	Tidak sesuai (sistein tidak muncul pada uji HPLC)	Liu et al., (2004)
	AVPF	Ala-Met-Val-Ser-Gly	Sesuai	Wang (2005)
	Tetradecapeptide	Cys-Phe-Lys-Asp-Gly-Ala-Ala-Asp-Arg-Ile-Ser-His-Gly-Phe	Tidak sesuai (sistein tidak muncul pada uji HPLC)	Ukena et al.,(1995)
	Lysenin 1	Ala-Lys-Tyr	Sesuai	(Cooper et al., 2002)
	Lysenin 2	Ser-Thr-Met-Asp-Glu-Ser-Ala	Sesuai	
	Lysenin 3	Arg-Gly-Ile-Tyr	Sesuai	

Asam amino yang muncul pada uji HPLC telah memenuhi prasyarat yang terbentuknya AMPs *fetidin 1*, *fetidin 2*, *AVPF* dan *lysenin* akan tetapi belum memenuhi syarat terbentuknya *ECP5-1*, *OEP3121* dan *tetradecapeptide* karena salah satu asam amino penyusunnya yaitu sistein tidak ditemukan pada hasil uji HPLC. Urutan asam amino penyusun *fetidin 1* mulai dari yang paling dominan yaitu alanin, asam aspartat, valin, serin, dan metionin. Urutan asam amino penyusun *fetidin 2* mulai dari yang paling dominan yaitu alanin, asam aspartat,

valin, glisin, treonin dan metionin. Selanjutnya urutan asam amino penyusun AVPF mulai dari yang paling dominan yaitu alanin, valin, glisin, serin dan metionin.

4.6.3 AMPs pada *Nereis sp.*

Asam amino penyusun AMPs *Nereis sp.* dibandingkan dengan hasil analisa HPLC dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Asam Amino Penyusun AMPs *Nereis sp.*

Asam amino hasil HPLC ekstrak kasar <i>Nereis sp.</i>	Nama peptida rantai pendek	Urutan asam amino	Keterangan	Referensi
Glisin, alanin, asam glutamat, leusin, valin, lisin, isoleusin, felilalanin, treonin, asam aspartat, serin, metionin, tirosin, histidin, arginin	<i>Hedistin</i>	Leu-Gly-Ala-Trp-Leu-Ala-Gly-Lys-Val-Ala-Gly-Thr-Val-Ala-Thr-Tyr-Ala-Trp-Asn-Arg-Tyr-Val	Tidak sesuai (triptofan dan asparagin tidak muncul pada uji HPLC)	Tasiemski <i>et al.</i> , (2007)
	<i>Hemerythrin</i>	His-Glu-Asp	Sesuai	Paiva <i>et al.</i> , (2017)

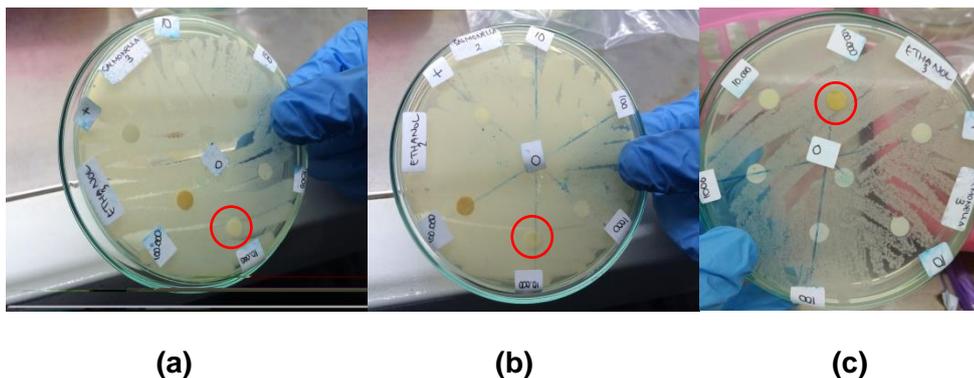
Asam amino hasil uji telah sesuai dengan asam amino penyusun *hemerythrin* dengan urutan asam amino dominan asam glutamat, asam aspartat dan histidin. Asam amino hasil uji tidak sesuai dengan asam amino penyusun AMPs *hedistin* karena tidak tersedia asam amino triptofan dan asparagin.

Triptofan merupakan asam amino esensial sedangkan prolin dan sistein merupakan asam amino non esensial yang merupakan asam amino penyusun AMPs yang tidak terdapat pada data uji asam amino. Hal ini dikarenakan beberapa faktor, diantaranya dapat dilihat pada Lampiran 13 yang menunjukkan beberapa asam amino yang tidak teridentifikasi namanya. Kelengkapan standard uji yang digunakan saat pembacaan asam amino sangat berpengaruh pada hasil pembacaan. Ada tidaknya triptofan, prolin dan sistein juga dipengaruhi oleh

proses deaminasi yang menyebabkan hilangnya salah satu asam amino penyusun ikatan peptida.

4.7 Uji Daya Hambat

Zona bening yang terbentuk pada media MHA yang berisi bakteri *Salmonella typhi* muncul di sekitar kertas cakram yang telah direndam dengan ekstrak cacing laut *Nereis sp.* pada konsentrasi 100.000 ppm sebesar 2,22 mm. Sedangkan zona hambat pada ekstrak kasar cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Eisenia foetida* muncul di sekitar kertas cakram pada konsentrasi 10.000 ppm dengan hasil pengukuran masing-masing 4,27 mm dan 2,46 mm. Hasil pengukuran zona bening dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Pengukuran Zona Bening (a) *Lumbricus rubellus* (b) *Eisenia foetida* (c) *Nereis sp.*

Aktivitas peptida antibakteri sangat bergantung pada kemampuannya untuk memasuki membran sel. Peptida antibakteri dan membran sel bakteri harus memiliki interaksi elektrostatis yang hanya akan terjadi bila ada perbedaan muatan antara keduanya. Dinding sel bakteri gram positif seperti *E. faecalis* mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asamteikuronat yang bermuatan negatif, sedangkan peptide antibakteri, khususnya *Lumbricin-I* memiliki muatan positif. Perbedaan muatan ini akan menyebabkan peptida tertarik ke sel hingga akhirnya memasuki membran sel

bakteri. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa peptida antibakteri dapat membunuh mikroorganisme dengan membuat lubang lubang kecil, meningkatkan permeabilitas dan merusak membran sel. Setelah berhasil memasuki sel, peptida antibakteri akan mengikatkan dirinya pada DNA sel dan menghambat sintesis makromolekul dan DNA sel sehingga menyebabkan kematian sel (Andayani *et al.*, 2010).

Senyawa aktif dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran materi intraselular. Adanya gugus hidrofobik pada senyawa antimikroba menyebabkan perubahan komposisi dan pelarutan pada membran sel yang akhirnya membran mengalami kerusakan. Kebocoran sel terjadi karena ikatan hidrofobik yang terdiri dari komponen penyusun membran seperti protein dan fosfolipid rusak, serta larutnya komponen-komponen lain yang berikatan secara hidrofilik dan hidrofobik. Kondisi ini dapat meningkatkan permeabilitas membran sel, sehingga memudahkan masuknya komponen antibakteri ke dalam sel serta mengakibatkan keluarnya substansi sel seperti protein dan asam nukleat yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel (Setyaningsih, 2010).