

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
EKSTRAK CACING LAOR (*Lysidice oele*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:
IRFAN ARDIANSYAH
NIM. 15630033



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
EKSTRAK CACING LAOR (*Lysidice oele*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:
IRFAN ARDIANSYAH
NIM. 15630033

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
EKSTRAK CACING LAOR (*Lysidice oele*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:
IRFAN ARDIANSYAH
NIM. 15630033

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 November 2019

Pembimbing I


A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 198220616 200604 1 002

Pembimbing II


Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19710311 200312 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan



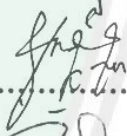

Elok Kamilah Hayati M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
EKSTRAK CACING LAOR (*Lysidice oele*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:
IRFAN ARDIANSYAH
NIM. 15630033

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 November 2019

Penguji Utama	: Eny Yulianti, M.Si NIP. 19760611 200501 2 006	(..... )
Ketua Penguji	: Anik Maunatin, S.T., M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248	(..... )
Sekretaris Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(..... )
Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19710311 200312 1 002	(..... )

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Elok Kurnilah Hayati M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Irfan Ardiansyah

NIM : 15630033

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Cacing Laor (*Lysidice oele*) sebagai Antibakteri terhadap *Salmonella typhi*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 6 Desember 2019

Yang membuat pernyataan



Irfan Ardiansyah
NIM. 15630033

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahrobbil'aalamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puja dan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah dan ridhonya sehingga bisa terselesaikan karya sederhana ini. Tak lupa sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan nabi besar Muhammad SAW.

...

Saya persembahkan karya sederhana ini kepada segenap orang-orang yang kusayangi sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terimakasih.

Kepada kedua orang tua saya (Ayah Fathur Rozi dan Ibu Siti Sariyah) yang selama ini telah memberikan segala bentuk dukungan, doa, motivasi, nasehat dan kasih sayang yang tidak tergantikan. Terima kasih untuk segalanya, mungkin kiranya tulisan ini hanya sebagian kecil hal yang bisa saya persembahkan untuk mereka, karena semua kebaikannya takkan bisa terbalas dengan apapun. Semoga Allah selalu melimpahkan kasih sayang-nya dan mengangkat derajat mereka disurga.... Aaamiiinnn....

...

Kepada Adikku (Irwan Ardiansyah dan Arini Ulfa Nadiyah) yang selalu menghibur dan menemani, memberikan dukungan dan semangat sehingga membuatku lebih tegar.

Serta **keluarga besar ayah dan ibu (Kakek, Nenek, Paman, Bibi)** yang selalu memberikan dukungan, nasehat dan doa untuk bisa menyelesaikan kuliah dan skripsi ini. Semoga Allah membalas kebaikan mereka dan mendapat kedudukan dan derajat yang tinggi disurga-Nya.... Aaamiiinnn....

...

Kepada seluruh dosen, staf laboran, dan administrasi jurusan kimia yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, pengalaman dan banyak ilmu yang sangat berarti dan bermanfaat baik dalam proses pembelajaran S-1 maupun dalam proses penelitian sehingga saya bisa memahami ilmu kimia dan agama dengan baik, serta terselesaikannya penelitian dan penulisan naskah ini dengan baik dan lancar.

Terutama **kepada Pak Naim selaku pembimbing penelitian, Bu Anik selaku konsultan penelitian dan Bu Akhyun selaku wali dosen.** Kiranya semoga kebaikan Bapak dan Ibu semuanya mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT....

Aaamiiinnn....

...

Kepada kawan seperjuangan dan sahabat terbaikku Laor Squad (Mas'uth), Organik Squad (Bagas, Fiddin, Vio, Surur, Mawaddah), Asam Sitrat (Aldi, Ihsani, Firda, Rahma, Fayrus, Iim, Sukria, Anggun), PKL Team (Yolanda), Kuliner Squad (Mukhlis, Nende, Ayyuma, Izza, Nissak, Mbak Aan, Mbak Dedew), Seluruh teman-teman Kimia A '15 (Yusuf, Fahmi, Andy, Java Tyas) dan Kimia Angkatan '15 yang telah menjadi bagian dalam hidup dan kesuksesanku.

Terima kasih sudah hadir dan mengajarku arti kebersamaan, yang mengajarkan bahwa tidak ada yang susah jika kita lalui bersama. Terima kasih atas segala doa dan semangat dari kalian. Seorang sahabat yang terukir dalam hatiku sampai kapanpun sebagai penyemangat yang luar biasa. Semoga cita-cita kita semua bisa terwujud dan kita semua sukses dunia sampai akhirat.... Aaamiiinnn...

...

MOTTO

“Belajarlah hebat seperti Yakult, meskipun ia dianggap buruk (bakteri) tapi ia mampu memberi manfaat untuk orang lain”

...

Fastabiqul Khoirot

“Berlomba-lombalah dalam kebaikan”

[Qs. Al-Baqarah: 148]

...

“Bahagia itu terletak pada syukur. Siapa yang bersyukur kepada Allah, maka dialah orang yang paling bahagia”

“Jangan tinggalkan dunia untuk mengejar akhirat dan jangan pula tinggalkan akhirat demi mengejar dunia. Namun raihlah kehidupan dunia untuk mendapat kebaikan di akhirat”

[Ustadz Abdul Somad, Lc, MA.]

...

“Sumber kebahagiaan adalah saat kita mampu menaklukkan nafsu demi menggapai takwa yang melahirkan ketenangan jiwa”

“Jika kita tidak mampu berlomba dengan orang sholeh dalam meningkatkan kebaikan, maka berlombalah dengan para pendosa untuk bertaubat dan beristighfar kepa Allah”

[Ustadz Adi Hidayat, Lc, MA.]

...

“Teruslah berbuat baik walaupun itu melelahkan, karena lelahnya akan hilang sedangkan pahalanya akan terus ada. Tinggalkanlah dosa dan maksiat walaupun itu menyenangkan, karena kesenangannya akan hilang sedangkan dosanya akan terus ada”

[Ustadz Hanan Attaki, Lc.]

...

“Jangan melayang karena pujian, jangan tumbang karena cacian, jangan berpaling karena godaan, tetaplah istiqomah di jalan iman”

...

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, hidayah dan InayahNya atas terselesaikan penulisan skripsi dengan judul: **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Cacing Laor (*Lysidice oele*) Sebagai Antinbakteri terhadap *Salmonella typhi*”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri MALIKI Malang.

Shalawat serta salam semoga senantiasa terlimpahkan kepada junjungan kita, Nabi Agung Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita dari zaman jahiliyah menuju ke zaman yang terang benderang, yang diridhai Allah SWT yakni ad-Diinul Islam. Semoga Allah melimpahkan atas beliau, rahmat sebagai pahala atas amal perbuatan beliau, serta kepada semua keluarga, sahabat dan para pengikut yang senantiasa meneruskan perjuangan sampai saat ini hingga akhir zaman.

Seiring dengan terselesaikannya penulisan skripsi ini, dengan penuh rasa hormat dan kerendahan hati, patutlah kiranya penulis mengucapkan terimakasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang telah banyak memberikan bantuan dan dukungannya selama dibangku kuliah sampai penulisan skripsi ini selesai, yaitu kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah serta karunia-Nya kepada penulis sehingga laporan ini dapat terselesaikan dengan baik.

2. Orang tua saya tercinta yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materi, serta keluarga besar yang selalu memberi motivasi dan semangat.
3. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat dalam penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat dalam penyusunan skripsi ini.
8. Bapak Ahmad Abtokhi, M. Pd selaku pembimbng agama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat dalam penyusunan skripsi ini.
9. Seluruh dosen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mendidik, membimbing, mengamalkan serta membagi banyak ilmunya, pengalaman, wacana dan wawasannya dengan ikhlas dan sabar, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
10. Organik Squad, Biokimia Squad dan Arsitek Molekul A angkatan 2015
Selaku sahabat, dan teman seperjuangan jurusa kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

yang telah memberi motivasi, informasi, dan masukan pada penulis.

11. Semua pihak yang telah membantu penyusunan laporan ini secara langsung maupun tidak langsung

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan pada penulis, mendapatkan balasan yang jauh lebih baik dari Allah SWT. Penulis sangat menyadari banyaknya kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca pada umumnya. Amiin Yaa Rabbal'alam.

Malang, 6 Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
مستخلص البحث	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Cacing Laut (<i>Polychaeta</i>)	8
2.2 Cacing Laor (<i>Lysidice oela</i>)	9
2.2.1 Deskripsi Laor (<i>Lysidice oela</i>)	9
2.2.2 Klasifikasi Cacing Laor	11
2.2.3 Morfologi dan Anatomi Cacing Laor	12
2.2.4 Siklus Hidup Cacing Laor	13
2.2.5 Reproduksi Cacing Laor	14
2.2.6 Habitat dan Penyebaran Cacing Laor	16
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder dari Cacing Laut	16
2.4 Jenis-jenis Senyawa Metabolit Sekunder	18
2.4.1 Triterpenoid	18
2.4.2 Flavonoid	19
2.4.3 Alkaloid	20
2.4.4 Saponin	22
2.4.5 Steroid	23
2.4.6 Fenolik	24
2.4.7 Tanin	25
2.5 Metode Isolasi Bahan Alam	26
2.6 Metode Pemisahan Bahan Alam	27
2.7 Identifikasi Senyawa aktif menggunakan Spektroskopi UV-Vis	29
2.8 Analisis Gugus Fungsi Senyawa Aktif menggunakan FTIR	32
2.9 Antibakteri	33

2.9.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri	35
2.9.2 Uji Aktivitas Antibakteri.....	37
2.10 Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	38
2.10.1 Deskripsi <i>Salmonella typhi</i>	38
2.10.2 Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	39
2.10.3 Patogenesis Demam Tifoid	41
2.10.4 Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	43

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	47
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	47
3.2.1 Alat.....	47
3.2.2 Bahan	47
3.3 Rancangan Penelitian	48
3.4 Tahapan Penelitian	48
3.5 Prosedur Kerja.....	49
3.5.1 Sampling	49
3.5.2 Ekstraksi Cacing Laor	49
3.5.3 Sterilisasi Alat.....	50
3.5.4 Pembuatan Media.....	50
3.5.4.1 Pembuatan Media NA (<i>Nutrien Agar</i>).....	50
3.5.4.2 Pembuatan Media NB (<i>Nutrien Broth</i>).....	51
3.5.5 Regenerasi Bakteri <i>S. typhi</i>	51
3.5.6 Inokulum Bakteri <i>S. typhi</i>	51
3.5.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri <i>S. typhi</i>	52
3.5.8 Pembuatan Larutan Kontrol	52
3.5.8.1 Pembuatan Larutan DMSO	52
3.5.8.2 Pembuatan Larutan Kloramfenikol	53
3.5.9 Uji Aktivitas Antibakteri.....	53
3.5.10 Uji Fitokimia Golongan Senyawa Aktif dalam Cacing Laor.....	55
3.5.10.1 Uji Flavonoid.....	55
3.5.10.2 Uji Steroid Dan Triterpenoid	55
3.5.10.3 Uji Saponin.....	56
3.5.10.4 Uji Tanin.....	56
3.5.10.5 Uji Fenolik.....	56
3.5.10.6 Uji Alkaloid	56
3.5.11 Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLT Analitik.....	57
3.5.12 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis....	57
3.5.13 Identifikasi Gugus Fungsi Spektroskopi FTIR	58
3.5.14 Analisis Data	58

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel.....	60
4.2 Ekstraksi Cacing Laor	61
4.3 Regenerasi dan Pembuatan Inokulum	66
4.3.1 Regenerasi <i>S. typhi</i>	66
4.3.2 Pembuatan Inokulum <i>S. typhi</i>	67
4.4 Uji Aktivitas Antibakteri.....	70

	xii
4.5 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Cacing Laor.....	78
4.5.1 Flavonoid	80
4.5.2 Uji Steroid Dan Triterpenoid	81
4.5.3 Uji Saponin	83
4.5.4 Uji Tanin	85
4.5.5 Uji Fenolik	85
4.5.6 Uji Alkaloid	86
4.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT	89
4.7 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	93
4.8 Identifikasi Gugus Fungsi menggunakan FTIR	95
4.9 Cacing Laor dan Pemanfaatannya dalam Perspektif Islam.....	98
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	103
5.2 Saran.....	103
 DAFTAR PUSTAKA.....	104
LAMPIRAN.....	120



DAFTAR GAMBAR

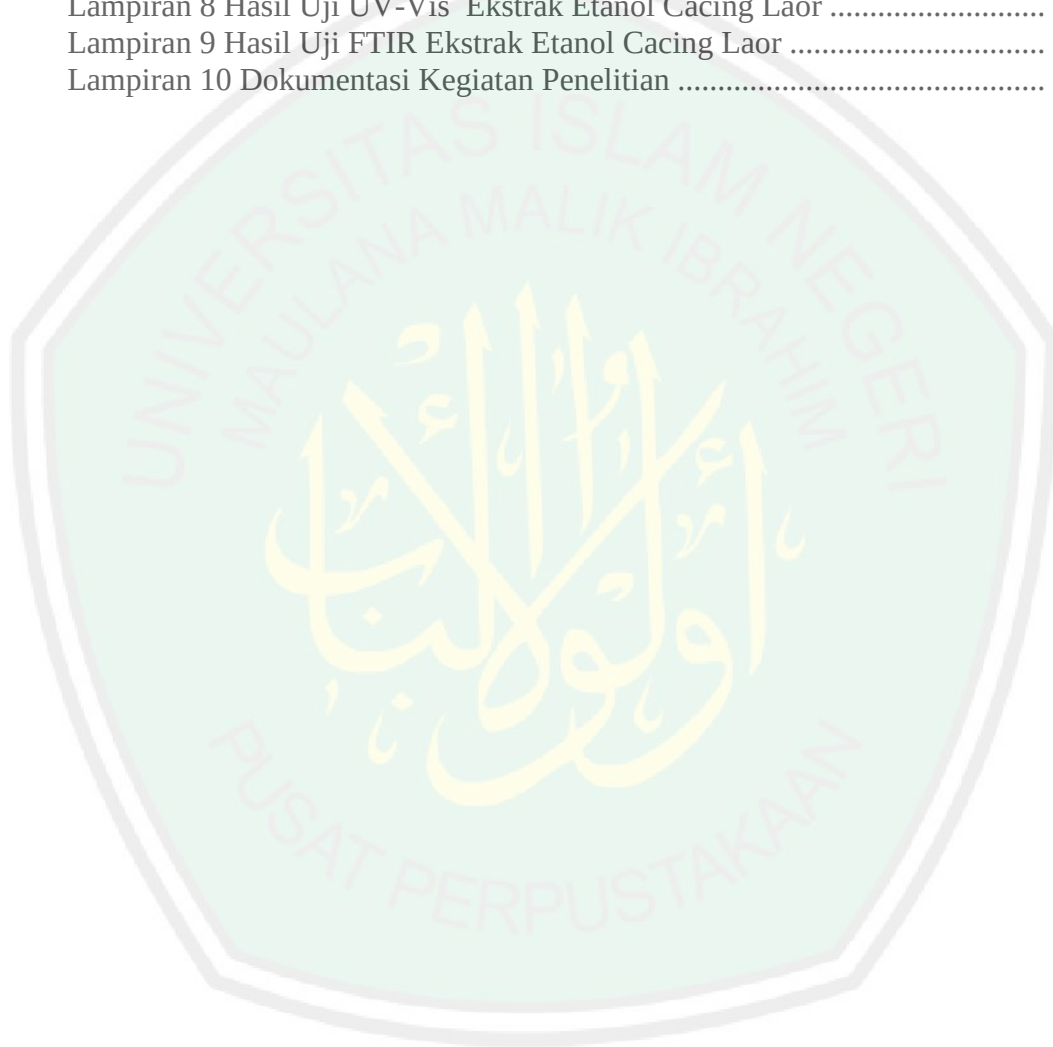
Gambar 2.1 Cacing Laor (<i>Lysidice oele</i>)	12
Gambar 2.2 a = Epitoke Jantan; b = Epitoke Betina dengan Sel-sel Telur yang Keluar dari Tubuhnya (perbesaran 10x)	15
Gambar 2.3 Struktur Isoprena	18
Gambar 2.4 Beberapa Pembagian Kelas pada Flavonoid	20
Gambar 2.5 Kerangka Dasar Kelompok Alkaloid	21
Gambar 2.6 Beberapa Contoh Senyawa Alkaloid.....	21
Gambar 2.7 Struktur Inti Senyawa Saponin.....	23
Gambar 2.8 Struktur Steroid	24
Gambar 2.9 Struktur Fenol.....	25
Gambar 2.10 Struktur Inti Tanin.....	26
Gambar 2.11 Hasil Spektrofotometri UV-Vis <i>Agrocybe aegerita</i>	31
Gambar 2.12 Hasil FTIR <i>Polychaete</i>	33
Gambar 2.13 Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	40
Gambar 2.14 Grafik Pertumbuhan Bakteri	44
Gambar 2.15 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	45
Gambar 4.1 Sampel Cacing Laor (a) Basah, (b) Kering/Serbuk.....	61
Gambar 4.2 Hasil Maserasi Cacing Laor dari Berbagai Pelarut: (1) Etanol, (2) Etil Asetat, (3) Petroleum Eter	62
Gambar 4.3 Ekstrak Kasar Cacing Laor dari Berbagai Pelarut: (1) Etanol, (2) Etil Asetat, (3) Petroleum Eter	63
Gambar 4.4 Zona Hambat dari Tiga Jenis Ekstrak Cacing Laor (1) Etanol, (2) Etil Asetat, (3) Petroleum Eter	71
Gambar 4.5 Zona Hambat dari Berbagai Variasi Ekstrak Etanol Cacing Laor (A) dan Kontrol (B). (1) 25 mg/mL, (2) 50 mg/mL, (3) 75 mg/mL, (4) 100 mg/mL, (5) 125 mg/mL, (K+) Kontrol Positif: (a) 125 mg/mL dan (b) 25 mg/mL, dan (K-) Kontrol Negatif.....	73
Gambar 4.6 Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Cacing Laor (1) Flavonoid, (2) Steroid dan Triterpenoid, (3) Saponin, (4) Tanin, (5) Fenol, (6) Alkaloid I, dan (7) Alkaloid II.....	79
Gambar 4.7 Reaksi Dugaan Antara Senyawa Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl Pekat.....	81
Gambar 4.8 Reaksi Dugaan Uji Triterpenoid	83
Gambar 4.9 Reaksi Dugaan Uji Saponin	86
Gambar 4.10 Reaksi Dugaan Uji Fenolik	86
Gambar 4.11 Reaksi Dugaan Uji Alkaloid dengan Reagen Dragendorff	88
Gambar 4.12 Reaksi Dugaan Uji Alkaloid dengan Reagen Mayer	89
Gambar 4.13 Profil KLT Ekstrak Etanol Cacing Laor (1) Alkaloid, (2) Saponin, (3) Triterpenoid, (4) Steroid, (5) Flavonoid, dan (6) Fenol.....	90
Gambar 4.14 Hasil Spektra UV-Vis Larutan Ekstrak Etanol Cacing Laor.....	94
Gambar 4.15 Hasil Spektrum FTIR Ekstrak Etanol Cacing Laor.....	96

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan Swarming Cacing Laut <i>Polychaeta</i> di Beberapa Daerah di Indonesia Timur	16
Tabel 2.2 Sitasi Warna Senyawa pada Lampu UV	28
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Cacing Laor dari Berbagai Pelarut	63
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Cacing Laor terhadap Bakteri <i>S. typhi</i>	71
Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Cacing Laor terhadap <i>S. typhi</i>	73
Tabel 4.4 Hasil Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Cacing Laor	79
Tabel 4.5 Data Hasil KLT Analitik Ekstrak Etanol Cacing Laor	91
Tabel 4.6 Hasil Analisis Kualitatif Ekstrak Etanol Cacing Laor	94
Tabel 4.7 Interpretasi Spektra FTIR Ekstrak Etanol Cacing Laor	97

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	120
Lampiran 2 Diagram Alir	121
Lampiran 3 Perhitungan	129
Lampiran 4 Perhitungan Rendemen	131
Lampiran 5 Perhitungan Jumlah Sel dan Diameter Zona Hambat	132
Lampiran 6 Hasil Analisa dengan <i>Anova One Way</i> (SPSS) dan Uji BNT	134
Lampiran 7 Perhitungan <i>Retardation Factor</i> (Rf) dan Resolusi	136
Lampiran 8 Hasil Uji UV-Vis Ekstrak Etanol Cacing Laor	138
Lampiran 9 Hasil Uji FTIR Ekstrak Etanol Cacing Laor	140
Lampiran 10 Dokumentasi Kegiatan Penelitian	141



ABSTRAK

Ardiansyah, I. 2019. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Cacing Laor (*Lysidice oele*) sebagai Antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.**

Pembimbing I: A. Ghanaïm Fasya, M.Si.; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M. Pd.; Konsultan I: Anik Maunatin, S.T., M.P.

Kata Kunci: Cacing Laor, Metabolit Sekunder, Antibakteri, *Salmonella typhi*.

Cacing laor (*Lysidice oele*) merupakan salah satu organisme laut yang melimpah jumlahnya dan mempunyai potensi cukup besar dalam menghasilkan senyawa aktif berupa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Penggunaan senyawa antibakteri alami dari cacing laor diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang berbahaya bagi manusia seperti bakteri *Salmonella typhi* yang dapat menimbulkan penyakit demam tifoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa metabolit sekunder dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi* dan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada cacing laor.

Ekstrak cacing laor diperoleh melalui ekstraksi maserasi dengan pelarut yang berbeda yaitu etanol, etil asetat dan petroleum eter. Masing-masing ekstrak cacing laor diuji aktivitas antibakteri melawan *S. typhi* menggunakan metode difusi agar. Hasil ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dilanjutkan dengan variasi konsentrasi yaitu 25, 50, 75, 100 dan 125 mg/mL, kemudian ekstrak terpilih diuji fitokimia dan senyawa dipisahkan menggunakan KLT. Senyawa aktif diidentifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan gugus fungsinya menggunakan Spektrofotometer FT-IR.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 27,79 %, sedangkan ekstrak petroleum eter dan etil asetat menghasilkan rendemen yaitu 16,89 % dan 5,63 %. Selain itu, ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *S. typhi* yaitu 10,16 mm, sedangkan etil asetat sebesar 6,83 mm dan petroleum eter yaitu 5,75 mm. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol cacing laor mengandung flavonoid, saponin, fenol, triterpenoid, dan alkaloid. Identifikasi senyawa aktif menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh $\lambda_{\max}$ sebesar 257 nm yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid, sedangkan identifikasi senyawa aktif menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, C-C, C=C, C-O alkohol primer, N-H primer, N-CH₃, CH₂, CH₃, dan C-H.

ABSTRACT

Ardiansyah, I. 2019. **Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compounds of Laor Worm Extract (*Lysidice oele*) as Antibacterial Against *Salmonella typhi*.**

Supervisor I: A. Ghanaïm Fasya, M.Si.; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M. Pd.; Consultant I: Anik Maunatin, S.T., M.P.

Keywords: Laor Worm, Secondary Metabolite, Antibacterial, *Salmonella typhi*.

Laor worm is one of the marine organisms that have an abundant amount and high potential of producing active substances in the form of secondary metabolite that can be used as antibacterial. The use of natural antibacterial compounds from laor worms is expected to inhibit the growth of pathogenic bacteria that are harmful to humans such as *Salmonella typhi* which can cause typhoid fever. This research aims to know the potential of secondary metabolite compounds in inhibiting the growth of *S.typhi* and to identify the secondary metabolites in Laor worm.

Laor worm extract was obtained by the maceration extraction using different solvents that were ethanol, ethyl acetate, and petroleum ether. Laor worm extract bacterial test against *S. typhi* used agar diffusion method. The extract which had the highest antibacterial activity was continued with various concentrations that were 25, 50, 75, 100, and 125 mg/mL, then the selected extract was tested for phytochemicals and the compounds were separated using TLC. The active compounds were identified using UV-Vis spectrophotometer and its functional groups were identified using FT-IR spectrophotometer.

The results of this research showed that ethanol extract produced the highest yield was 27,79 %, while petroleum ether and ethyl acetate extract produced yield were 16,89 % and 5,63 %. Moreover, ethanol extract had the highest antibacterial activity against *S. typhi* which was 10,16 mm, while ethyl acetate extract was 6,83 mm and petroleum ether was 5,75 mm. The result of phytochemical tests showed that the ethanol extract contained flavonoids, saponins, phenolics, triterpenoids, and alkaloids. The identification of active compounds using UV-Vis spectrophotometer was obtained λ_{max} was 257 nm that showed of flavonoid compound. While the identification using FTIR spectrophotometer showed of functional groups were O-H, C=O, C-C, C=C, C-O primary alcohol, N-H primer, N-CH₃, CH₂, CH₃, and C-H.

مستخلص البحث

أرديانشة، أ. ٢٠١٩. عزل وتحديد المركبات الأيضية الثانوية لمستخلص دودة لاور (*Lysidice oele*) كمضاد للجراثيم ضد السالمونيلا التيفية.

المشرف الأول: أ. غانم فاشا، الماجستير، المشرف الثاني: أحمد أبطوخي، الماجستير. المستشار: أنيك موناتين، الماجستير.

الكلمات المفتاحية: دودة لاور، الأيضات الثانوية، مضاد للجراثيم، السالمونيلا التيفية.

تعتبر دودة لاور (*Lysidice oele*) واحدة من الكائنات البحرية الوفيرة من حيث العدد ولديها إمكانات كبيرة في إنتاج مركبات نشطة في شكل نواتج أيضية ثانوية يمكن استخدامها كمضاد للجراثيم. من المتوقع أن يمنع استخدام المركبات المضادة للبكتيريا الطبيعية من الديدان نمو البكتيريا المسببة للأمراض التي تضر بالبشر مثل السالمونيلا التيفية التي يمكن أن تسبب حمى التيفوئيد. يهدف هذا البحث إلى تحديد إمكانات المستقبلات الثانوية في تثبيط نمو السالمونيلا التيفية وتحديد مركبات المستقبلات الثانوية الموجودة في دودة لاور.

يتم الحصول على مستخلص دودة لاور من خلال استخراج مسيراسي بمذيبات مختلفة وهي الإيثانول، وخلات الإيثيل والإيثر البترولي. تم اختبار كل مستخلص دودة لاور للنشاط المضاد للبكتيريا ضد السالمونيلا التيفية باستخدام طريقة نشر أجار. يتبع المستخلص الذي يحتوي على أعلى نشاط مضاد للجراثيم اختلافات في تركيز ٢٥ و ٥٠ و ٧٥ و ١٠٠ و ١٢٥ ملغ/مل، ثم يتم اختبار المستخلص المحدد للكيمياء النباتية ويتم فصل المركب بالطبقة الرقيقة اللونية. تم تحديد المركب النشط باستخدام مقياس الطيف الضوئي الأشعة فوق البنفسجية وكانت مجموعته الوظيفية تستخدم مقياس الطيف الضوئي التحويل الأشعة الفورية تحت الحمراء.

أظهرت النتائج أن مستخلص الإيثانول أنتج أعلى نسبة إنتاجية بلغت ٢٧,٧٩٪ ، في حين أن مستخلصات إيثيل وأسيات إيثيل النفط قد حققت عائدات بلغت ١٦,٨٩٪ و ٥,٦٣٪. بالإضافة إلى ذلك، كان لمستخلص الإيثانول أعلى نشاط مضاد للجراثيم ضد السالمونيلا التيفية الذي كان ١٠,١٦ ملم، في حين أن خلاص الإيثيل كانت ٦,٨٣ ملم والإيثر البترولي ٥,٧٥ ملم. أظهرت نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية أن مستخلص الإيثانول من الدودة لا يحتوي على مركبات الفلافونويد، والصابونين، والفينولات، والثالثيات، والقلويات. تحديد المركبات النشطة باستخدام مقياس الطيف الضوئي الأشعة فوق البنفسجية الذي تم الحصول عليه λ_{max} يبلغ ٢٥٧ نانومتر والذي يشير إلى وجود مركبات الفلافونويد، في حين أن تحديد المركبات النشطة باستخدام مقياس الطيف الضوئي التحويل الأشعة الفورية تحت الحمراء. أظهر وجود O-H، C=O، C-O، C-H، C، C=C، O-H، لكحول الرئيسي، N-H الرئيسي، CH₃-N، CH₂ و CH₃ و C-H.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kehidupan manusia tidak terlepas dari interaksi dengan berbagai makhluk hidup, salah satunya yaitu mikroorganisme. Tanpa disadari mikroorganisme memberikan peranan penting dalam kehidupan. Mikroorganisme terdiri dari beberapa kelompok seperti fungi, virus dan bakteri. Maka mempunyai kelompok yang beragam, mikroorganisme ada yang bersifat menguntungkan dan yang bersifat merugikan (patogen), bahkan dapat menyebabkan terjadinya gangguan fisiologi apabila masuk ke dalam tubuh.

Bakteri *Salmonella typhi* menyebabkan penyakit tifus (*typhoid fever*), karena invasi bakteri ini ke dalam pembuluh darah dan gastroenteritis, yang disebabkan oleh racun yang dihasilkan bakteri *S. typhi*. Gejala tifus diantaranya demam, mual-mual, muntah dan apabila tidak segera diobati akan berakibat pada kematian (Maloy, 1999). Indonesia merupakan negara endemik demam tifoid. Diperkirakan terdapat 800 penderita per 100.000 penduduk setiap tahun yang ditemukan sepanjang tahun. Penyakit ini tersebar di seluruh wilayah dengan insidensi yang tidak berbeda jauh antar daerah. (Widoyono, 2011). Penyakit ini disebarkan melalui makanan dan minuman yang telah tercemar oleh tinja (Handriani, 2009). Terjadinya penyebaran penyakit ini disebabkan oleh kebiasaan hidup yang kurang bersih dan dekatnya kontak antara limbah manusia dengan makanan dan sumber air minum (Wiku, 2007).

Cara yang saat ini mampu untuk mengatasi perkembangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri yakni dengan mengkonsumsi antibiotik. Antibiotik adalah zat biokimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain. Dewasa ini penggunaan bahan alam untuk pengobatan sebagai antibiotik lebih ditekankan, hal ini dikarenakan sedikit bahkan hampir tidak ada efek negatif yang ditimbulkan dari penggunaan obat yang bersumber dari bahan alam. Kemampuan bahan-bahan alami untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat memberikan efek farmakologis menjadikan bahan alami tersebut sering digunakan sebagai salah satu sumber alternatif untuk menyembuhkan penyakit tertentu. Metabolit sekunder berperan penting dalam pengaturan dan sinkronisasi siklus reproduksi, serta pemberi sinyal jika ada predator yang membahayakan (Stachowicz, 2001).

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan dua pertiga wilayahnya adalah lautan (Martiningsih, 2013). Hal ini menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara dengan kekayaan keanekaragaman (*biodiversity*) hayati laut tertinggi di dunia (Dahuri, 2003). Luas lautan serta keragaman jasad-jasad hidup yang ada di dalamnya membentuk dinamika kehidupan di laut yang saling berkesinambungan dan membentuk suatu peranan penting dalam kehidupan manusia. Allah SWT berfirman dalam Al Qur'an pada surat an-Nahl ayat 14:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى
الْفُلَّكَ مَوَاحِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

Artinya: “*Dan Dialah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur*” (QS. an-Nahl: 14).

Allah SWT memberikan kabar gembira kepada hamba-hambaNya dengan menyediakan lautan yang menghempas ombak dengan gelombangnya. Hal ini tertulis dalam firmanNya: (سَخَّرَ الْبَحْرَ). Tujuan dari ditundukkannya lautan ini yaitu agar kita sebagai manusia dapat mengambil keuntungan dari lautan seperti dalam firmanNya: (وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ) “*dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya dan supaya kamu bersyukur*” (Abdullah, 2003).

Sebagaimana dalam surat An-Nahl ayat 14 menjelaskan bahwa Allah SWT telah memerintahkan untuk memakan (لِتَأْكُلُوا), mengeluarkan (تَسْتَخْرِجُوا), melihat (وَتَرَى), dan mencari (لِتَبْتَغُوا) keuntungan dari karunia-Nya yang sudah ada di laut. Lautan mempunyai beberapa hewan dan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia, salah satunya sebagai sumber makanan. Berbagai macam biota laut yang sangat banyak dimulai dari yang berukuran kecil sampai yang berukuran sangat besar terdapat di dasar lautan. Biota-biota laut ini selain dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan, juga mempunyai potensi sebagai salah satu sumber obat.

Keanekaragaman hayati perairan laut Indonesia memberi peluang untuk memanfaatkan biota laut dalam pencarian metabolit sekunder senyawa bioaktif baru. Metabolit sekunder dari berbagai invertebrata laut dapat dimanfaatkan dalam kehidupan manusia sebagai bahan obat-obatan. Beranekaragam senyawa baru yang diisolasi dari organisme laut sebagian besar mempunyai potensi sebagai bahan biomedika. Biota laut (*marine organism*) merupakan sumber bahan alam

yang sangat kaya dengan aktivitas biologi yang unik. Banyak organisme laut yang telah terbukti mengandung senyawa bioaktif yang berkasiat sebagai antibakterial, antivirus, maupun antikanker (Barnes, 1991). *Polychaeta* merupakan hewan invertebrata yang termasuk anggota filum *Annelida*. Masyarakat di Indonesia mengenal *polychaeta* dengan nama cacing laut, karena habitatnya sebagian besar di laut.

Cacing laut atau nama ilmiahnya *Polychaeta* bermanfaat sebagai pakan untuk induk udang (Rasidi, 2012). Cacing laut (*Polychaeta*) banyak ditemukan pada permukaan laut pada musim kawin, yaitu setahun sekali baik pada bulan Maret atau April dan berkembangbiak secara ekstenal. Cacing laut (*Polychaeta*) diketahui mengandung banyak protein (Liline, dkk., 2017). Masyarakat khususnya di daerah pesisir pantai Maluku sudah terbiasa mengonsumsi cacing laut karena mereka yakin bahwa cacing laut mengandung nutrisi yang baik dan bermanfaat bagi kesehatan manusia. Pada musim tertentu masyarakat menangkap cacing laut tersebut dan hingga kini menjadi sebuah tradisi bagi masyarakat Maluku. Cacing laut yang hidup di daerah bentos menghasilkan bromopenol, bromopyrol dan bromobenzyl alkohol (Woodin, *et al.*, 1987). Lebih jauh dari penelitian Lovell *et al.* (1999) menunjukkan bahwa bromophenol mempunyai sifat antimikroba dalam hal ini bromophenol mampu menghambat respirasi mikroba. Senyawa ini selain dihasilkan oleh *polychaeta* juga dihasilkan oleh sponge, coral, tunicate (Fielman, *et al.*, 1999). Zhang dan Zi (2011) menambahkan bahwa di Cina Selatan cacing laut telah lama digunakan sebagai obat tradisional dalam mengobati penyakit tuberkulosis, pengatur fungsi lambung dan limpa, serta pemulihan kesehatan yang disebabkan oleh patogen.

Cacing laor yang berlimpah jumlahnya pada saat aktivitas timbah laor adalah suatu petunjuk bahwa cacing laor mempunyai kemampuan untuk menjaga dirinya dari makhluk lain yang ada di laut. Kemampuan dalam menjaga dirinya mungkin karena cacing laor mempunyai bahan aktif (*natural product*) yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan makhluk hidup lainnya. Kemampuan cacing laor dalam menghambat pertumbuhan kuman benthos terkait dengan tempat hidup cacing laor yaitu dalam karang (Jekti, dkk., 2008).

Kompleksnya komponen kimia dari cacing laut telah memacu berkembangnya usaha isolasi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada cacing laor. Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi prekursor bagi sintesis obat baru atau prototip obat beraktivitas tertentu (Rasyid, 2012). Kelompok senyawa metabolit sekunder sangat melimpah dan umum ditemukan dalam organisme diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid (Marliana, 2007). Senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut telah terbukti dapat bersifat sebagai antibakteri (Taslim, 2009).

Beberapa penelitian yang pernah dilakukan tentang cacing laut yaitu Uji aktivitas antibakteri cacing laut *Perinereis cultrifera* ekstrak metanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti bakteri *E. coli* (7 mm), *Klebsiella oxytoca* (1 mm), *L. vulgaris* (3 mm), *Proteus mirabilis* (2 mm), *S. typhi* (3 mm), *S. paratyphi* (4 mm), *S. aureus* (8 mm) pada konsentrasi 25 mg/mL. (Elayaraja, *et al.*, 2010). Selain itu, senyawa aktif dari cacing laut *Perinereis aibuhitensis* ekstrak etanol 96% juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (12,8

mm) dan *S. typhi* (12,1 mm) pada konsentrasi 60 µg/mL (Nurwahida, dkk., 2018). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa metabolit sekunder sehingga dapat dijadikan sebagai senyawa antibakteri yang berguna bagi kesehatan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dilaksanakannya penelitian adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana potensi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat, petroleum eter dan etanol cacing laor (*Lysidice oele*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*?
2. Identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak pelarut terbaik cacing laor (*Lysidice oele*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui potensi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat, petroleum eter dan etanol cacing laor (*Lysidice oele*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*.
2. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada cacing laor (*Lysidice oele*).

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel cacing laut yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung cacing laor yang diperoleh dari Universitas Pattimura. Tempat pengambilan sampel cacing laor di Pantai Tanjung Latuhalat, Desa Latuhalat, Kec. Nusaniwe, Kota Ambon, Provinsi Maluku, Indonesia.
2. Proses ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etil asetat, petroleum eter dan etanol.
3. Bakteri uji yang digunakan adalah *S. typhi* dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Senyawa metabolit sekunder meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, triterpenoid, steroid dan tanin.
5. Identifikasi senyawa dan gugus fungsi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak cacing laor (*Lysidice oele*) sehingga dapat dijadikan sebagai bahan dasar antibiotik bakteri *Salmonella typhi*.
2. Menjadi rujukan bagi para peneliti untuk dapat melakukan penelitian selanjutnya dengan memanfaatkan ekstrak cacing laor (*Lysidice oele*) sebagai obat tradisional.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Cacing Laut (*Polychaeta*)

Perairan laut nusantara memiliki sifat kompleks yang di dalamnya terkandung sumber daya alam hayati dan non hayati yang melimpah. Salah satu sumber daya hayati perairan yang penting dalam ekosistem laut adalah cacing laut. Cacing laut termasuk dalam filum *Annelida* kelas *Polychaeta* (Fauchald, 1977). *Polychaeta* berasal dari bahasa latin yang terdiri atas *Poly* dan *chetae*, *poly* artinya banyak sedangkan *chetae* merupakan bagian yang menyerupai rambut yang terletak di pinggir kanan dan kiri badan cacing. Ciri khas dari *Polychaeta* adalah banyaknya *chetae* yang terlihat seperti kaki-kaki di seluruh badannya (Nurwahida, dkk., 2018). Bagian-bagian badan utama cacing laut pembeda famili dan genus adalah *prostomium*, *peristomium*, *farink*, *parapodia* (kaki), dan *setae* (rambut). Morfologi umum cacing laut terdiri atas kepala, badan, dan ekor (Rasidi, 2012).

Polychaeta tidak dapat hidup lama atau tidak berumur panjang, yaitu tidak lebih dari dua tahun. Ada beberapa spesies yang hidup lebih pendek, yaitu sekitar 30 – 45 hari. Pada umumnya cacing laut merupakan hewan yang memiliki tubuh yang lunak, langsing dan berbentuk silindris serta mempunyai warna-warna yang menarik seperti merah, hijau, biru, coklat dan lain-lain yang disebabkan adanya pigmen zat warna pada tubuhnya. Cacing laut yang hidup pada terumbu karang seringkali membentuk cangkang kapur dan kerap kali berperan secara biologis sebagai pengurai batu karang (Yusron, 1985).

2.2 Cacing Laor (*Lysidice oele*)

2.2.1 Deskripsi Laor (*Lysidice oele*)

Cacing laor (*Lysidice oele*) adalah salah satu biota khas perairan Maluku. Habitat hidup cacing laor adalah pada daerah terumbu karang dan banyak ditemukan di beberapa daerah antara lain pulau Ambon, Seram, Saparua, Banda dan kepulauan Kei. Dikatakan selanjutnya bahwa perubahan musim dan peredaran bulan sangat berpengaruh dalam proses reproduksi. Proses reproduksi biasanya berlangsung pada bulan Maret atau April pada saat air pasang tertinggi, pemunculannya setahun sekali, di musim tertentu, wilayah tersebut menjadi zona perkawinan bagi jutaan cacing laor. Pengaruh harian pun terlihat pula, yaitu hanya sekitar 2 jam setelah hari benar-benar gelap (Swartana, 1983).

Cacing laor merupakan salah satu sumber makanan halal yang berasal dari lautan dan mempunyai banyak manfaat bagi manusia. Cacing laor mengandung banyak protein, kaya akan asam amino esensial, asam lemak tidak jenuh dan berbagai mineral dengan nilai biologis yang tinggi. Cacing laor yang dikonsumsi masyarakat Maluku berpotensi mengandung nutrisi yang baik bagi kesehatan manusia. Sehingga masyarakat khususnya di daerah pesisir pantai Maluku banyak mengosumsinya. Cacing Laor yang dikonsumsi masyarakat Maluku sebenarnya adalah *posterior organisme Polychaeta* yang berisi telur dan sperma. Kebiasaan konsumsi pangan laor ini sebelumnya diolah menjadi lawar laor dan bakasang laor. Selain itu bermanfaat sebagai pakan udang (Liline and Corebima, 2017) dan pakan ikan hias laut (Ignatius, 2001). Berdasarkan pernyataan tersebut menunjukkan bahwa lautan mempunyai potensi sebagai penyedia makanan yang halal dan mempunyai berbagai manfaat bagi kehidupan. Manfaat lautan sebagai

penyedia sumber makanan yang halal tertulis dalam surah al-Maidah ayat 96, Allah SWT berfirman:

أُحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِلْغِيَّانَةِ وَحُرِّمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ مَا دُمْتُمْ حُرُمًا
وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ ﴿٩٦﴾

Artinya: “Dihalalkan bagimu binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan; dan diharamkan atasmu (menangkap) binatang buruan darat, selama kamu dalam ihram. Dan bertakwalah kepada Allah Yang kepada-Nya-lah kamu akan dikumpulkan” (QS. al-Maidah: 96).

Ibnu Abu Talhah telah meriwayatkan dari Ibnu Abbas dalam suatu riwayat, juga dari Sa'id Ibnul Musayyab serta Sa'id Ibnu Jubair dan lain-lainnya sehubungan dengan makna firman Allah: (أُحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ) “dihalalkan bagi kalian binatang buruan laut”. Yang dimaksud disini yaitu hewan laut yang ditangkap dalam keadaan segar. Sedangkan yang dimaksud dalam firman Allah: (وَطَعَامُهُ) “dan makanan (yang berasal) dari laut”, yaitu makanan yang bersumber dari laut untuk dijadikan bekal dalam keadaan diasin dan telah kering (Abdullah, 2003).

Ibnu Abbas dalam suatu riwayat mengatakan, yang dimaksud dengan (صَيْدُ) adalah hewan laut yang ditangkap dalam keadaan hidup-hidup. Sedangkan yang dimaksud dengan (طَعَامُهُ) yaitu hewan laut yang dicampakkan ke darat oleh laut dalam keadaan telah mati. Sufyan Ibnu Unayyah telah meriwayatkan dari Amr Ibnu Dinar, dari Ikrimah, dari Abu Bakar As-Siddiq yang mengatakan bahwa yang dimaksud dengan (طَعَامُهُ) yaitu semua yang ada di dalam laut. Hal ini diriwayatkan oleh Ibnu Jarir dan Ibnu Abu Hatim (Abdullah, 2003). Cacing laor

halal hukumnya untuk dikonsumsi juga diperkuat dalam surat al-A'raf ayat 157 yang menjelaskan hewan laut halal hukumnya sebagai berikut:

وَيُحِلُّ لَهُمُ الطَّيِّبَاتِ وَيُحَرِّمُ عَلَيْهِمُ الْخَبَائِثَ ﴿١٥٧﴾

Artinya: “dan menghalalkan bagi mereka segala yang baik dan mengharamkan bagi mereka segala yang buruk” (QS. al-A'raf: 157).

Sebagaimana dalam surat al-A'raf ayat 157 menjelaskan bahwa Allah SWT menyuruh hambanya untuk melakukan sesuatu yang diketahui sebagai sebuah kebaikan dan keselamatan dan melarang hambanya untuk melakukan sesuatu yang diketahui sebagai suatu keburukan menurut akal yang sehat dan fitrah yang normal, menghalalkan makanan, minuman, dan pernikahan yang dianggap lezat sepanjang tidak berbahaya, mengharamkan menghalalkan makanan, minuman, dan pernikahan yang dianggap menjijikkan, dan menanggalkan beban berat yang semula mereka pikul (Al-Qarni, 2008). Ibnu Katsir menjelaskan bahwa dihalalkan bagi mereka apa-apa yang sebelumnya mereka haramkan atas diri mereka sendiri seperti makanan laut, memelihara anjing (siaga), dan lain sebagainya (Al-Mubarakfury, 1999).

2.2.2 Klasifikasi Cacing Laor

Laor adalah spesies dari kelas *Polychaeta* yang tergolong dalam phylum *Annelida* (golongan cacing Vermes). Termasuk dalam kehidupan hewan invertebrate artinya hewan yang tidak bertulang belakang yakni vermes (cacing)

dalam golongan phylum *Annelida* yang artinya cacing gelang, karena tubuhnya yang memanjang tersusun dari gelang-gelang (Talakua, 2013).



Gambar 2.1 Cacing Laor (*Lysidice oele*)

Klasifikasi cacing laor/cacing wawo secara sistematis adalah sebagai berikut (Talakua, 2013):

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Annelida
Kelas	: Polychaeta
Ordo	: Eunicida
Family	: Eunicidae
Genus	: Lysidice
Spesies	: <i>Lysidice oele</i>

2.2.3 Morfologi dan Anatomi Cacing Laor

Sesuai dengan nama kelasnya *Polychaeta*, laor memiliki sejumlah rambut (*chaeta*) pada permukaan tubuhnya, tetapi permukaan tubuh dilapisi kutikula sehingga tampak licin dan kaku. Tubuh laor berbentuk simetris bilateral dengan

segmen-segmen yang mudah hancur. Tubuhnya tersusun atas banyak segmen, antar tiap segmen terdapat dinding pemisah yang disebut septum. Laor juga bersifat metameri artinya tiap segmen memiliki alat ekskresi, alat pembiakan dan pembuluh darah serta otot sendiri (Talakua, 2013).

Mulut terdapat pada ujung anterior (bagian depan) sedangkan anus terdapat pada bagian posterior (bagian belakang). Susunan tubuhnya terdiri dari 3 lapisan yaitu ektoderm (lapisan luar), mesoderm (lapisan tengah) dan endoderm (lapisan dalam). Panjang tubuh laor antara 5 – 7 cm dengan garis tengah 1,5 mm. Laor memiliki warna-warna yang menarik seperti kemerah-merahan, biru, dan coklat karena adanya pigmen. Pada bagian anterior terdapat kepala berbentuk elips yang dikelilingi oleh pigmen berwarna coklat, sepasang sungut dan 3 tentakel. Pada tiap segmen terdapat parapodia (tonjolan kaki) ke arah kiri dan kanan (4 parapodia pada masing-masing bagian kiri dan kanan) dan pada tiap parapodia terdapat sepasang chaeta tetapi tanpa cili (duri-duri halus). Otot-otot terbagi atas otot melingkar dan otot membujur (Talakua, 2013).

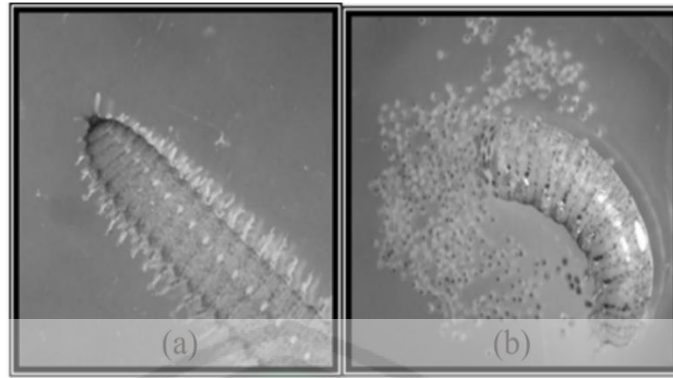
2.2.4 Siklus Hidup Cacing Laor

Sebagian besar cacing *Polychaeta* reproduksinya bersifat monotelic, yaitu hewan yang hanya mengalami satu kali reproduksi selama siklus hidupnya (Rasidi, 2012). Laor menghabiskan sebagian besar hidup mereka menggali ke dalam puing-puing karang atau substrat lainnya pada kedalaman yang dangkal ($\pm$ 23 meter). Proses pengambilan makanan mereka mengkonsumsi materi organik pada karang dan berperan sebagai pengurai batu karang dengan memakan organisme mati dan produk-produk limbah dari organisme lain. Dalam persiapan

pemijahan, mereka mulai menghasilkan ekor dari jenis terdiri dari segmen-segmen yang mengandung telur dan sperma. Bagian ini cacing disebut epitoke. Fitur yang epitoke sebuah eyespot, yang mampu mendeteksi cahaya. Ketika waktunya sudah tepat, semua epitokes dilepaskan secara bersamaan dan membuat jalan mereka ke permukaan.

2.2.5 Reproduksi Cacing Laor

Cacing laut dari kelas *Polychaeta* memiliki warna-warna yang menarik yaitu dengan warna hijau pada jenis betina dan warna coklat pada jenis jantan. Bagian tubuh cacing laor jantan yang berwarna coklat dan cacing laor betina yang berwarna hijau naik ke permukaan air sambil menggerakkan tubuhnya atau menari-nari (Jekti, *et al.*, 2008). Cacing laor mengalami peristiwa *swarming*, yakni peristiwa ketika cacing laut dari jenis tertentu berkerumun dalam jumlah melimpah di sekitar permukaan air laut untuk melakukan perkawinan secara eksternal. Cara perkembangbiakan cacing laor berbeda dengan hewan lainnya, dalam proses perkawinan baik jantan maupun betina melepaskan bagian *posterior* (belakang/punggung)-nya dari *anterior* (depan/muka). Bagian *posterior* ini mengandung telur dan sperma yang berenang dengan kaki *parapodia* ke arah belakang menuju permukaan laut dan akhirnya memecahkan diri masing-masing sehingga telur dan spermanya akan bertemu dalam air laut dan membentuk larva cacing yang disebut *trochopora* (Pamungkas, 2009).



Gambar 2.2 a = Epitoke Jantan; b = Epitoke Betina dengan Sel-sel Telur yang Keluar dari Tubuhnya (perbesaran 10x)

Pamungksas (2009) menjelaskan bahwa reproduksi pada cacing laut *Polychaeta* secara garis besar dapat dilakukan dengan dua cara, yakni secara klonal (aseksual) dan secara epitoky (seksual). Reproduksi secara klonal dilakukan baik dengan merenerasi bagian tubuh yang terpotong maupun dengan membentuk *stolon*. Sedangkan pada reproduksi secara epitoky, separuh atau seluruh bagian tubuh cacing, pada masa-masa tertentu, akan menjadi matang kelamin. Melalui keterangan-keterangan tersebut, dapat diketahui bahwa cacing laor di perairan Desa Latuhalat melakukan reproduksi secara epitoky, serta dilakukan dengan dua cara. Pertama, dengan memunculkan seluruh tubuhnya yang telah matang kelamin ke permukaan air (bagian epitoke); dan kedua, melalui pemisahan bagian epitoke dari atokenya. Epitoke muncul ke permukaan air untuk melakukan pemijahan secara eksternal, sedangkan bagian atoke (bagian kepala) tertinggal di dasar perairan.

Tabel 2.1 Perbandingan Swarming Cacing Laut *Polychaeta* di Beberapa Daerah di Indonesia Timur

Daerah Perairan	Jenis Cacing	Nama Lokal	Waktu Pemunculan
Lombok	<i>Eunice siciliensis</i> dan <i>Licydice collaris</i>	Nyale	Antara waktu shubuh hingga fajar menyingsing
Maluku	<i>Lysidice oele</i> dan <i>Eunice fucata</i> , <i>Eunice antartica</i> dan <i>Dendronereides heteropoda</i>	Laor	Mulai waktu maghrib hingga 2 – 3 jam setelahnya
Sumba	<i>Eunice viridis</i>	Palolo	Antara waktu shubuh hingga fajar menyingsing

Sumber : Pamungkas (2009).

2.2.6 Habitat dan Penyebaran Cacing Laor

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, bahwa di dalam karang hidup maupun karang mati umumnya dapat ditemukan banyak *polychaeta*, namun perlu dicatat bahwa terumbu karang dalam arti umum saja tidak menjamin kemungkinan munculnya laor, karena dalam kenyataannya hanya di perairan Ambon, Lombok, dan Samudra Pasifik selatan terdapat spesies ini. Tidak semua perairan Ambon dan sekitarnya dapat ditemukam cacing laor karena hanya di tempat-tempat yang mempunyai jenis terumbu karang yang mati berbentuk masif dan luas menjorok kelaut disitulah laor muncul. Lokasi munculnya Laor di Ambon diantaranya Pulau Haruku, Pulau Pombo, Pulau Saparua, Latulahat, Airlouw dan Liliboy. Sehingga dapat disimpulkan bahwa laor termasuk hewan karang (*coral animal*) (Talakua, 2013).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder dari Cacing Laut

Senyawa alami secara umum adalah molekul kimia berupa mineral, metabolit primer, dan metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah senyawa

yang disintesis oleh makhluk tumbuhan, mikrobia atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital (jika tidak ada tidak mati) sebagaimana gula, asam amino dan asam lemak. Metabolit ini memiliki aktifitas farmakologi dan biologi.

Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain dengan cara menghambat ataupun membunuhnya. Sedangkan metabolit primer digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan organisme yang bersangkutan (Motomasa, 1998). Metabolit sekunder (*natural product*) diproduksi oleh organisme sebagai respon terhadap lingkungan. Senyawa kimia (*chemical defense*) yang dihasilkan oleh invertebrata laut berfungsi sebagai alat pertahanan diri dari serangan predator, mencegah infeksi bakteri, membantu proses reproduksi dan mencegah sengatan sinar ultraviolet (Harper, *et al.*, 2001). Pengaruh lingkungan laut seperti kadar garam, rendahnya intensitas cahaya, adanya arus maupun kompetisi yang kuat mendorong organisme laut menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai struktur kimia relatif berbeda dengan organisme darat (Paul, 1992).

Banyak organisme laut mengembangkan sistem mekanisme pertahan diri dengan memproduksi toksin atau senyawa bioaktif (metabolit sekunder) yang secara fungsional belum diketahui. Hasil penelitian Jekti *et al.* (2008) ekstrak cacing laor (*Lysidice oele*) ini mempunyai daya hambat terhadap kuman patogen manusia, yaitu *Pseudomonas aeroginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Streptococcus epidermidis*, *Streptococcus aureus*, dan *Streptococcus pneumoniae*. Menurut Woodin *et al.* (1987) Cacing laut yang hidup di daerah bentos

menghasilkan bromopenol, bromopyrol dan bromobenzyl alkohol. Lebih jauh dari penelitian Lovell *et al.* (1999) menunjukan bahwa bromophenol mempunyai sifat antimikroba dalam hal ini bromophenol mampu menghambat respirasi mikroba. Senyawa ini selain dihasilkan oleh *polychaeta* juga dihasilkan oleh sponge, coral, tunicate (Fielman, *et al.*, 1999). Kelompok senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah terpenoid, flavonoid, Saponin, Polifenol, Tanin, fenolik dan alkaloid.

2.4 Jenis-jenis Senyawa Metabolit Sekunder

2.4.1 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena. Senyawa tersebut mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehid atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak berwarna, kristalin, sering mempunyai titik lebur tinggi. Senyawa triterpenoid banyak terdapat dalam lapisan dalam daun dan buah, juga terdapat dalam dammar, kulit batang dan getah. (Harborne, 1987).



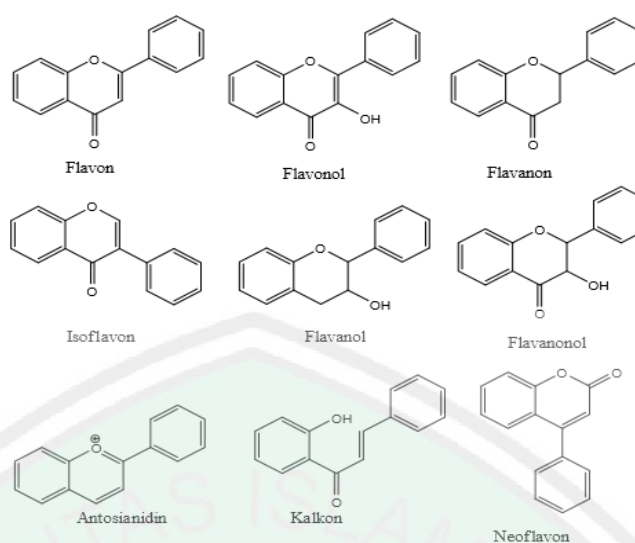
Gambar 2.3 Struktur Isoprena (Sastrohamidjojo, 1996)

Menurut (Heinrich, *et al.*, 2009) triterpenoid juga merupakan komponen resin dari tanaman yang diproduksi jika pohon menjadi rusak sebagai

perlindungan fisik terhadap serangan fungi dan bakteri. Selain itu, banyak komponen terpenoid resin ini memiliki aktivitas antimikroba tinggi, baik membunuh mikroba patogen maupun memperlambat pertumbuhannya hingga pohon dapat memperbaiki kerusakannya. (Rita, 2010) dalam penelitiannya menyatakan bahwa senyawa triterpenoid pada rimpang temu putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2.4.2 Flavonoid

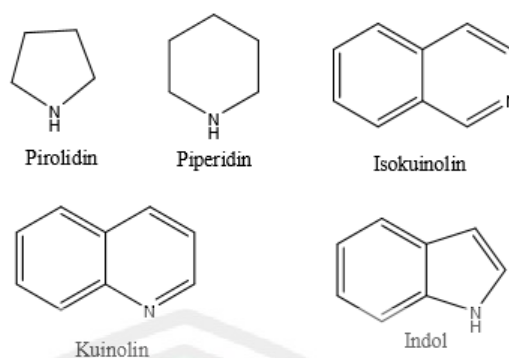
Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa bahan alam yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid pada umumnya mempunyai kerangka flavon $C_6-C_3-C_6$, dengan tiga atom karbon sebagai jembatan antara gugus fenil yang biasanya juga terdapat atom oksigen. Berdasarkan pada tingkat ketidakjenuhan dan oksidasi dari segmen karbon, flavonoid selanjutnya dibagi menjadi beberapa kelas seperti pada Gambar 2.4. Senyawa ini biasanya terdapat sebagai pigmen tumbuhan untuk menarik pollinators, atau sebagai bahan pertahanan bagi hewan untuk melawan serangan mangsanya (Rosa, *et al.*, 2010).



Gambar 2.4 Beberapa Pembagian Kelas pada Flavonoid

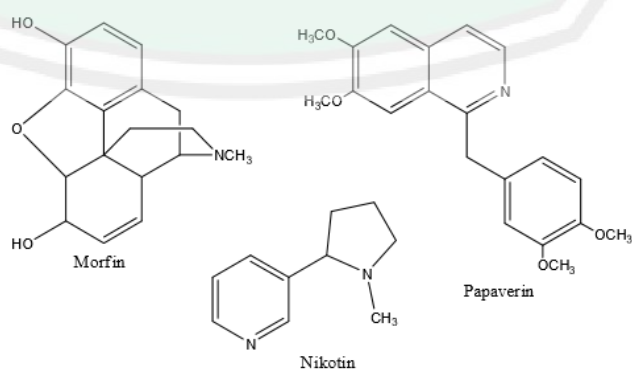
2.4.3 Alkaloid

Alkaloid termasuk kelompok molekul metabolit sekunder yang tersebar luas di alam dan banyak juga ditemukan dalam biota laut. Nitrogen merupakan ciri utama dari kelompok senyawa ini baik sebagai bahagian dari cincin heterosiklik maupun sebagai gugus substituen pada cincin. Pada umumnya molekul alkaloid disintesis dalam organisme dengan menggunakan asam amino sebagai prazat atau precursor sintesis. Meskipun ada juga sebagian kecil alkaloid disintesis tidak menggunakan asam amino sebagai prekursor, kelompok ini dikenal sebagai pseudoalkaloid (Usman, 2014).



Gambar 2.5 Kerangka Dasar Kelompok Alkaloid

Karakteristik kimiawi alkaloid bersifat basa, hal ini tercermin pada penamaan alkaloid yang berasal dari kata alkali yang berarti bersifat basa. Sifat basa molekul alkaloid disebabkan oleh adanya gugus nitrogen yang bersifat basa melekat pada molekul alkaloid. Banyak temuan melalui hasil penelitian menunjukkan penyebaran dan keragaman molekul alkaloid dalam organisme laut sangat luas. Begitu pula manfaat fisiologi dan farmakologi kelompok senyawa ini telah banyak diungkapkan memiliki prospek yang sangat tinggi. Selain dari pada itu, yang cukup menarik para peneliti terhadap adanya keunikan tersendiri molekul alkaloid yang berasal dari organisme laut (Usman, 2014).



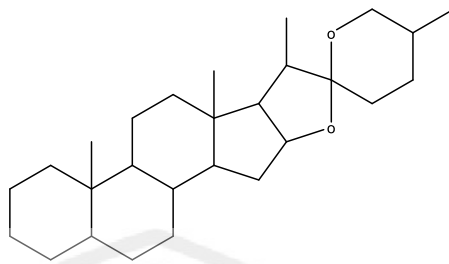
Gambar 2.6 Beberapa Contoh Senyawa Alkaloid

Alkaloid biasanya dikelompokkan berdasarkan bentuk cincin heterosiklik nitrogen yang terdapat di dalamnya, sebagai contoh pirolidin, piperidin, quinolin, isoquinolin, indol. Atom nitrogen pada alkaloid berasal dari asam amino, dan pada umumnya struktur kerangka karbon pada asam amino prekursor akan bertahan ketika dalam bentuk alkaloid. Prekursor asam amino yang berhubungan dengan biosintesis alkaloid antara lain adalah ornitin, lisin, asam nikotinoat, tirosin, triptopan, asam antranilat, dan histidin (Dewick, 2009).

2.4.4 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin “sapo” yang berarti sabun, dinamakan demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun (Robinson, 1995).

Saponin diklasifikasikan menjadi dua, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C_{27}) dengan molekul karbohidrat sedangkan saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat (Purwono dan Hartono, 2008). Oesman *et al.* (2010) menyatakan bahwa saponin adalah senyawa polar yang keberadaannya dalam tumbuhan dapat diekstraksi dengan pelarut semipolar dan polar. Beberapa saponin memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Robinson, 1995).

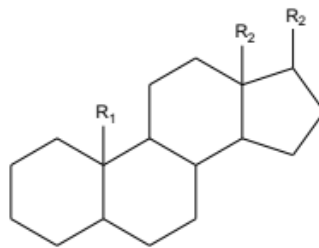


Gambar 2.7 Struktur Inti Senyawa Saponin (Robinson, 1995)

Senyawa saponin dapat bersifat antibakteri dengan merusak membran sel, rusaknya membran sel menyebabkan substansi penting keluar dari sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. Jika fungsi membran sel rusak maka akan menyebabkan kematian sel (Monalisa, dkk., 2011).

2.4.5 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut. Beberapa turunan steroid yang penting yaitu steroid alkohol atau sterol. Beberapa steroid lain yaitu asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Poedjiadi, 1994).

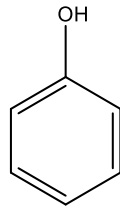


Gambar 2.8 Struktur Steroid (Poedjiadi, 1994)

Steroid bisa terdapat dalam bentuk glikosida (Harborne, 1987). Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gula dan aglikon. Adanya gula yang terikat dan bersifat polar mengakibatkan glikosida mampu larut dalam pelarut polar. Namun sebaliknya, aglikon berupa steroid yang bersifat nonpolar menyebabkan steroid lebih larut pada pelarut nonpolar (Purwatresna, 2012).

2.4.6 Fenolik

Fenolik Istilah senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri yang sama yaitu cincin aromatic yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya senyawa tersebut sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida (Harborne, 1987). Fenolik merupakan senyawa turunan fenol yang secara kimia telah diubah untuk mengurangi kemampuannya dalam mengiritasi kulit dan meningkatkan aktivitas antibakterinya. Aktivitas antimikroba senyawa fenolik adalah dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme sehingga menyebabkan isi sel keluar (Pratiwi, 2008).



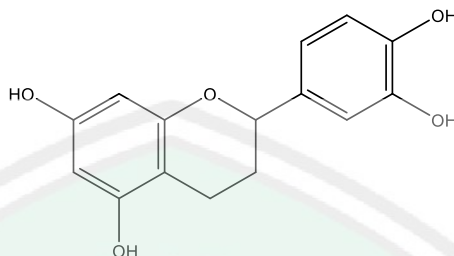
Gambar 2.9. Struktur Fenol (Vermerris and Nicholson, 2006)

Fenol mampu berperan sebagai senyawa antibakteri karena fenol mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak yang terdapat pada membran sel menyebabkan turunnya tegangan permukaan membran sel (Rahayu, 2000). Selanjutnya mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel sebagai lapisan yang selektif, sehingga sel menjadi lisis (Jawetz, *et al.*, 1996). (Purwantiningsih dan Suranindyah, 2014) telah melakukan pengujian aktivitas senyawa fenol dalam cacing laut untuk penghambatan bakteri penyebab mastitis, hasilnya menunjukkan bahwa senyawa fenol dari cacing laut memiliki aktivitas antibakteri.

2.4.7 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekol dan tanin terhidrolisis atau tanin galat. Sebagian besar tumbuhan yang banyak mengandung tanin dihindari hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Salah satu fungsi tanin dalam tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harborne, 1987). Tanin dalam berbagai jenis tanaman memiliki struktur kimia dan reaksi yang berbeda-beda, tetapi memiliki sifat yang sama yaitu dapat mengendapkan gelatin dan protein

(Shahidi and Naczki, 1995). Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10. Struktur Inti Tanin (Robinson, 1995).

2.5 Metode Isolasi Bahan Alam

Salah satu teknik isolasi yang sering digunakan yaitu ekstraksi. Ekstraksi berkaitan dengan distribusi suatu zat terlarut di antara dua fasa yang tidak saling bercampur. Teknik ekstraksi sangat berguna untuk memisahkan komponen dari komponen-komponen lain baik untuk zat organik maupun zat anorganik (Achmadi, 1992).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel bahan alam akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Lenny, 2006). Proses ini dilakukan beberapa kali sampai larutan bening dan ekstrak kemudian disatukan lalu diuapkan dengan menggunakan evaporator (Markham, 1988). Setelah dilakukan

proses ekstraksi, tahap isolasi selanjutnya adalah analisis senyawa dengan menggunakan teknik pemisahan.

2.6 Metode Pemisahan Bahan Alam

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben) yang memiliki kepolaran yang berbeda (Hendayana, 2006). Kristanti dkk. (2008) menyebutkan bahwa KLT banyak digunakan karena proses analisis yang mudah dan cepat. KLT digunakan untuk memisahkan suatu senyawa dari campurannya sehingga dihasilkan senyawa yang lebih murni.

Prinsip KLT adalah adsorpsi dan partisi dimana adsorpsi adalah penyerapan pada permukaan, sedangkan partisi adalah penyebaran atau kemampuan suatu zat yang ada dalam larutan untuk berpisah kedalam pelarut yang digunakan. Kecepatan gerak senyawa-senyawa ke atas pada lempengan tergantung pada (Soebagio, 2002). Fase diam dalam KLT yaitu lapisan tipis silika gel, aluminium oksida, atau selulosa sebagai fase diam yang dilapiskan pada gelas, kaca atau logam. Fase geraknya adalah pelarut campuran yang di tempatkan dalam bejana pengembang. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah eluen n-heksana:etil asetat (4:1). Imamah dkk. (2015) dalam penelitiannya telah melakukan variasi eluen untuk pemisahan dalam fraksi etil asetat. Terdapat 5 eluen yang divariasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA), yaitu n-heksana:etil asetat (4,25:0,75), n-heksana:etil asetat (4,5:0,5), n-

heksana:etil asetat (4:1), n-heksana:etil asetat (3,75:1,25) dan n-heksana:etil asetat (3,5:1,5). Eluen n-heksana:etil asetat (4:1) memberikan pemisahan terbaik.

Tabel 2.2 Sitasi Warna Senyawa pada Lampu UV

No	Warna	Dugaan Senyawa	Literatur
1.	Hijau	Steroid	Heftman, E. (1976)
2.	Hijau kebiruan	Steroid	Babu, Jhonson dan Patric (2015)
3.	Merah muda - merah	Triterpenoid	Farnsworth (1996)
4.	Jingga – kuning	Alkaloid	Svendsen dan Verpoorte (1983)
5.	Lembayung (ungu)	Tanin	Harborne (1987)
6.	Biru muda, coklat, Kuning	Flavonoid	Harborne (1987)
7.	Merah lembayung / Merah	Antosianin	Hajnos, Joseph dan Teresa (2008)
8.	Jingga	Flavonoid golongan flavonol	Markham, K.R. (1988)

Sumber: Marliana. E, (2007)

Pada pelaksanaan kromatografi lapis tipis, larutan cuplikan atau sampel ditotolkan pada plat dengan pipet mikro atau injektor pada jarak 1 cm dari batas plat. Setelah kering, plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak sampai pada batas tertentu. Proses pengembangan dikerjakan dalam *chambers* tertutup yang diisi dengan fasa gerak yang tepat dan telah dijenuhi uap pelarutnya agar dihasilkan pemisahan yang baik. Untuk mengidentifikasi senyawa dalam plat KLT dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu: pengamatan langsung (untuk noda/bercak yang tampak), dan dengan lampu UV pada rentang panjang gelombang 245 nm dan 366 nm (Widiyatni, 2010).

Hasil yang didapat kemudian diamati dengan menghitung harga perbandingan jarak pergerakan komponen-komponen yang dipisahkan dengan

jarak pergerakan pelarut yang dikenal dengan R_f (*Retardation Factor*). Senyawa yang terpisah dapat diidentifikasi dengan menghitung harga R_f yaitu:

$$R_f = \frac{\text{Jarak Perjalanan Suatu Senyawa}}{\text{Jarak Perjalanan Suatu Fasa Gerak}}$$

Harga R_f ini bergantung pada beberapa parameter yaitu sistem pelarut, adsorben (ukuran butir, kandungan air, ketebalan), jumlah bahan yang ditotolkan pada plat dan suhu (Rasyidi, 2016). KLT mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya: waktu yang dibutuhkan tidak lama (2 – 5 menit) dan sampel yang dipakai hanya sedikit sekali (2 – 20 μg). Kerugiannya dengan menggunakan KLT adalah tidak efektif untuk skala industri. Walaupun lembaran KLT yang digunakan lebih lebar dan tebal, pemisahannya sering dibatasi hanya sampai beberapa miligram sampel saja. Metode ini kepekaannya cukup tinggi dengan jumlah cuplikan beberapa mikrogram. Hasil dari metode KLT akan mengarahkan dilakukannya fraksinasi lebih lanjut untuk pemisahan suatu komponen dari sampel.

2.7 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190 – 380) dan sinar tampak (380 – 780) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja, 1995). Spektrofotometer UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk analisis kuantitatif. Spektrofotometer terdiri atas spektrometer

dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan antara sampel dan blanko ataupun pembandingan (Khopkar, 2003).

Prinsip spektrofotometer adalah larutan sampel dikenai radiasi elektromagnetik, sehingga larutan tersebut menyerap energi/radiasi yang menyebabkan terjadinya interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi (atom/molekul). Jumlah intensitas radiasi yang diserap oleh larutan sampel terukur dalam bentuk transmitansi dan absorbansi dikonversi menjadi konsentrasi analat yang kemudian menjadi data kuantitatif (Yulianti, 2008). Dalam spektroskopi UV-Vis penyerapan sinar tampak dan ultraviolet oleh suatu molekul akan menghasilkan transisi di antara tingkat energi elektronik molekul tersebut. Transisi tersebut pada umumnya antara orbital ikatan, orbital non-ikatan atau orbital anti-ikatan. Panjang gelombang serapan yang muncul merupakan ukuran perbedaan tingkat-tingkat energi dari orbital suatu molekul (Nurhidayat, 2016). Penerapan Spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak (UV-Vis) kebanyakan diterapkan pada senyawa organik yang didasarkan pada transisi $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$ dan karenanya memerlukan kehadiran gugus kromofor dalam molekul itu. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum (sekitar 200 hingga 700 nm) yang praktis digunakan dalam eksperimen (Day dan Underwood, 1999).

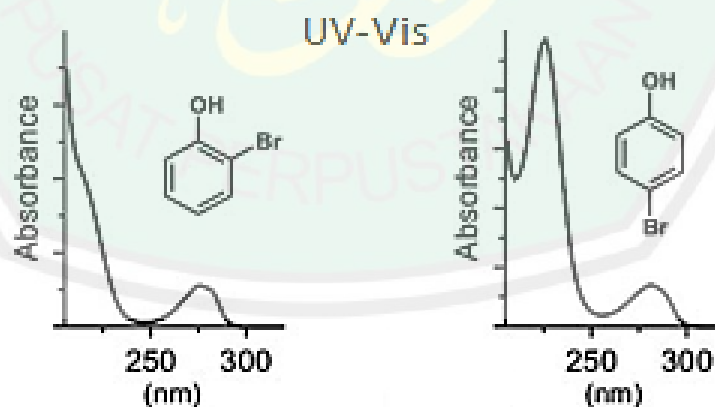
Pengkonversian data absorbansi dan transmitansi menggunakan hukum Lambert-Beer. Hukum Lambert menyatakan bahwa cahaya monokromatik

melewati medium tembus cahaya, laju berkurangnya intensitas oleh bertambahnya ketebalan berbanding lurus dengan intensitas cahaya (Siregar, 2010). Hukum Beer menyatakan bahwa intensitas cahaya berkurang secara eksponensial dengan bertambahnya konsentrasi zat penyerap secara linier (Basset, 1994).

Persamaan Lambert-Beer yang mengamati antara intensitas sinar (monokromatis) mula-mula dengan intensitas sinar (monokromatis) setelah melalui media:

$$A = \text{Log } I_0/I_t = \text{Log } 1/T = \epsilon b c$$

Dimana, A = absorbansi; I_0 = Intensitas awal; I_t = Intensitas setelah melalui media; T = transmitansi; ϵ = absorbtivitas molar; b = tebal media; c = konsentrasi larutan. Hukum Lambert-Beer mengindikasikan bahwa absorbtivitas adalah konsentrasi yang konstan, panjang gelombang yang kecil dan intensitas radiasi. Faktor yang memengaruhi hukum Lambert-Beer adalah konsentrasi, zat pengabsorpsi, cahaya dan kejernihan (Huda, 2001).



Gambar 2.11 Hasil Spektrofotometri UV-Vis *Agrocybe aegerita* (Singh, *et al.*, 2014)

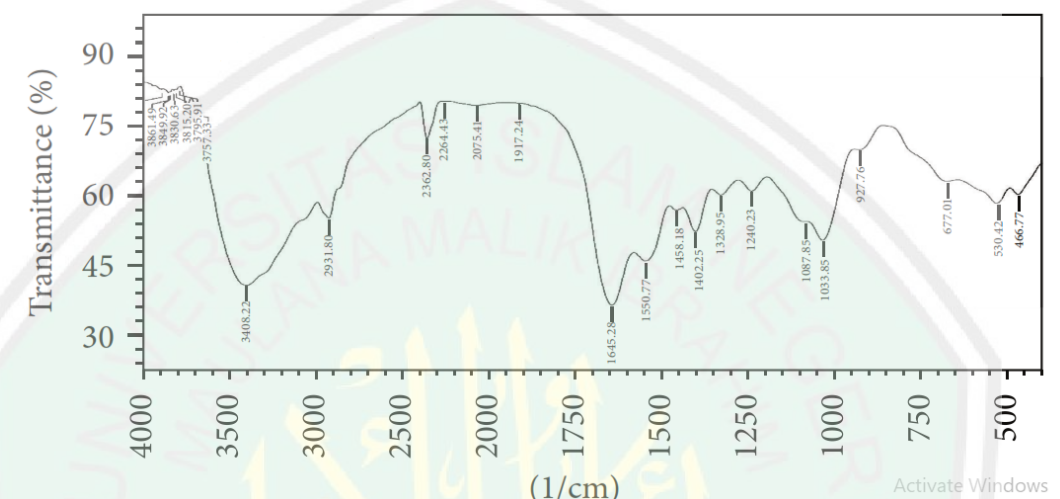
Menurut Ullrich and Hofrichter (2005) menyatakan bahwa jamur *Agrocybe aegerita* mengandung senyawa bromopenol. Senyawa bromopenol merupakan senyawa yang juga terkandung dalam cacing laut. Bromopenol dalam jamur *Agrocybe aegerita* terdeteksi *o*-bromopenol dan *p*-bromopenol yang memiliki panjang gelombang maksimum 210 nm dan 220 nm yang menunjukkan spektra UV dari 2-bromopenol dan 4-bromopenol.

2.8 Analisis Gugus Fungsi Senyawa Aktif Menggunakan FTIR

Fourier Transform Infra Red (FTIR) merupakan salah satu instrument yang menggunakan prinsip spektroskopi. Spektrofotometer infra merah digunakan untuk mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran (Day dan Underwood, 1999). Senyawa organik yang berbeda akan mempunyai spektra yang berbeda dan sangat jarang sekali dua senyawa mempunyai spektra yang sama (Hayati, 2007). Bilangan gelombang yang sering digunakan dalam analisis senyawa bahan alam yaitu pada daerah infra merah tengah ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$). Keuntungan menggunakan FTIR antara lain diperoleh informasi struktur molekul secara tepat dan akurat dengan resolusi tinggi dan identifikasi sampel dapat dilakukan dalam berbagai fase, baik pada fase padat, cair maupun gas.

Spektroskopi FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FT-IR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pen trasmisian cahaya yang melewati

sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam, dkk., 2007).



Gambar 2.12 Hasil FTIR *Polychaete* (Singh, *et al.*, 2014)

Penelitian Singh *et al.* (2014) melakukan identifikasi senyawa yang terdapat pada *polycheta*. Hasil analisis memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 3408 cm^{-1} (OH), 2931 cm^{-1} (C-H), 1645 cm^{-1} (C=C), 1402 cm^{-1} (C=C), 1240 cm^{-1} (C-O), 530 cm^{-1} (C-X).

2.9 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri

termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Hamdani, 2013).

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme. Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral. Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik, bakterisidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakteriostatik dan bakterisidal. Antibakteri bakteriostatik bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisidal bekerja dengan cara mematikan bakteri secara langsung. Bakteriostatik dapat bertindak sebagai bakterisidal dalam konsentrasi tinggi. Antibakteri yang sangat toksik yang membahayakan inangnya bukan merupakan antibiotik yang baik dan dianggap beracun. Kriteria zat ideal yang digunakan sebagai zat antibakteri adalah

aktivitasnya yang luas, tidak bersifat racun, ekonomis, sebaiknya bersifat membunuh dari pada hanya menghambat pertumbuhan mikroba (Pelczar dan Chan, 1986).

Berdasarkan penggolongan kategori kekuatan daya hambat dari Davis dan Stout (2009) membagi kekuatan daya antibakteri menjadi empat kategori, yaitu menghambat lemah (<5 mm), sedang (5 – 10 mm), kuat (10 – 20 mm), dan sangat kuat (>20 mm).

2.9.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Mekanisme kerja senyawa antibakteri dapat terjadi melalui penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat dan merusak struktur membran sel bakteri (Volk dan Wheeler, 1993).

a. Penghambatan sintesis dinding sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk (Pelczar dan Chan, 1986). Beberapa senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat terjadinya reaksi peptidasi pada proses sintesis peptidaglikan sehingga dapat melemahkan dinding sel yang dapat mengakibatkan lisis.

b. Penghambatan sintesis protein

Kehidupan sel bakteri tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan ilmiah (Pelczar dan Chan, 1986). Proses

penghambatan pertumbuhan bakteri melalui penghambatan sintesis protein dapat terjadi dengan cara menghambat terjadinya proses peptidiltransferase yang dapat mengganggu proses pengikatan asam amino baru pada rantai peptida yang sedang terbentuk.

c. Penghambatan sintesis asam nukleat

Pada umumnya, antibakteri dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan cara berinteraksi dengan benang heliks ganda DNA dengan cara mencegah replikasi atau transkripsi berikutnya dan berkombinasi dengan polimerase yang terlibat dalam biosintesis DNA atau RNA. Menurut Pelczar dan Chan (1986) DNA dan RNA memiliki peran penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri.

d. Perusakan struktur membran sel

Beberapa senyawa antibakteri dapat mempengaruhi sifat semipermeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kerusakan struktur membran yang dapat menghambat atau merusak kemampuan membran sel sebagai penghalang osmosis dan juga mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang dibutuhkan di dalam membran sel. Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat,

penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1986).

2.9.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri merupakan teknik untuk mengukur besarnya potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Ayu, 2004). Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri bervariasi. Bakteri gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif (Brock dan Madigan, 1991). Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu metode pokok yakni difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri (Jawetz, *et al.*, 2005).

Metode difusi yang sering digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Kertas cakram direndam dalam senyawa antibakteri tertentu, kemudian di tempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram yang dipergunakan mengukur kekuatan hambat senyawa antibakteri terhadap organisme uji (Jawetz, *et al.*, 2005).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat dan harus dikontrol adalah (Pratama, 2005):

- a. Konsentrasi bakteri pada permukaan medium. Semakin tinggi konsentrasi bakteri maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin kecil

- b. Kadalam medium pada cawan petri. Semakin tebal medium dalam cawan petri maka zona hambat akan semakin kecil
- c. Nilai pH dari medium. Beberapa antibiotik bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa kondisi basa.

2.10 Bakteri *Salmonella typhi*

2.10.1 Deskripsi *Salmonella typhi*

Salmonella typhi adalah bakteri basil gram negatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini berbentuk batang, tidak membentuk spora, memiliki flagella peritrikus bersifat motil dengan menggunakan flagel peritrik, mampu tumbuh pada media nutrient agar, dan bersifat fakultatif anaerob serta fakultatif intrasel (Holt, *et al*, 2000). Bakteri *S. typhi* berdiameter 0,7 hingga 1,5 μm dengan panjang 2 hingga 5 μm . Suhu minimum untuk pertumbuhan *S. typhi* adalah 45 °C, sedangkan suhu pertumbuhan optimumnya adalah 35 – 37 °C (D'Aoust, 2000)) dan pada pH pertumbuhan 6 – 8 (Parija, 2012). Bakteri ini dapat hidup sampai beberapa minggu di alam bebas seperti di dalam air, es, sampah dan debu. Bakteri ini dapat mati dengan pemanasan (suhu 60 °C) selama 15 – 20 menit, pasteurisasi, pendidihan dan khlorinasi (Rahayu, 2013).

Pada umumnya isolat kuman *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat sebagai berikut; gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, fenilalanin deaminase, urease, Voges Proskauer, reaksi fermentasi terhadap sukrosa dan laktosa (Staff FKUI, 1993). Bakteri ini memiliki kemampuan dalam memfermentasi dextrosa, maltosa dan

manitol dengan menghasilkan H_2S dan gas, mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan oksidase negatif (Eisenstein, 2000).

2.10.2 Klasifikasi *Salmonella typhi*

Holt *et al.* (2000) dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* menyebutkan bahwa terdapat 30 genus anggota famili *Enterobacteriaceae*, salah satu diantaranya adalah genus *Salmonella*. Genus *Salmonella* terdiri dari dua spesies, yaitu *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. Selanjutnya *Salmonella enterica* dibagi menjadi enam subspecies, yaitu *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (subsp. I), subsp. *salamae* (subsp. II), subsp. *arizonae* (subsp. IIIa), subsp. *diarizonae* (subsp. IIIa), subsp. *houtenae* (subsp. IV), dan subsp. *indica* (subsp. VI). Sedangkan *Salmonella bongori* pada awalnya dikategorikan sebagai *S. enterica* (subspesies V) sebelum ditentukan sebagai spesies yang terpisah dari *Salmonella enterica*. Disamping pengelompokan secara taksonomi seperti tersebut di atas, genus *Salmonella* juga memiliki anggota lebih dari 2500 serotipe atau strain yang berbeda menurut antigen O dan H (Truper, 2005). *Salmonella typhi* adalah agen demam tifoid yang termasuk dalam subspecies I: *S. enterica* subsp. *Enterica serotype typhi* (*S. enterica serovar typhi*; *Salmonella typhi*). Demam tifoid paling banyak terjadi di daerah tropis daerah, termasuk Indonesia (Moehario 2009).



Gambar 2.13 Bakteri *Salmonella typhi* (Kayser, *et al*, 2005)

Klasifikasi bakteri *Salmonella typhi* menurut Brooks *et al.* (2013) sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma proteobacteria
Ordo	: Enterobacterales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

S. typhi memiliki endotoksin berupa antigen flagella H, lipopolisakarida (LPS) O antigen, dan polisakarida antigen capsular virulence (Vi) yang ditemukan pada permukaan bakteri. Endotoksin inilah yang memacu pengeluaran sitokin proinflamasi dalam tubuh sehingga dapat menimbulkan gejala klinis (Parry, *et al.*, 2002). *S. typhi* memiliki Outer Membran Protein (OMP) yaitu bagian terluar yang terletak di luar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel dengan lingkungan sekitarnya. OMP sebagian besar terdiri dari protein purin,

berperan pada patogenesis demam tifoid dan antigen yang penting dalam mekanisme respon imun host (Kaur and Jain, 2012).

2.10.3 Patogenesis Demam Tifoid

Bakteri dari genus *Salmonella* merupakan bakteri penyebab infeksi yang jika tertelan masuk dan berkembang biak di dalam tubuh akan menimbulkan gejala yang disebut *salmonellosis*. Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella* dibagi menjadi dua grup besar yaitu nontyphoid *salmonellosis* (gastroenteritis) dan typhoid *salmonellosis* (demam typhoid). Gastroenteritis disebabkan karena infeksi *S. typhi* yang terbatas pada epithelium usus sedangkan demam typhoid disebabkan karena infeksi yang terjadi pada keseluruhan sistem (Nur'utami, 2011).

Demam tifoid (*typhoid fever*) atau yang di dalam masyarakat Indonesia lebih dikenal dengan nama tifus, adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enteric*, khususnya keturunannya yaitu *S. typhi* (Syarifah, 2011). *Typhoid salmonellosis* (demam typhoid) memiliki gejala awal yang agak berbeda dan jauh lebih lambat (24 – 48 jam setelah konsumsi) daripada nontyphoid *salmonellosis* (12 jam setelah konsumsi). Demam typhoid akan mengalami peningkatan secara bertahap setiap harinya dan sering kali muncul bintik merah pada kulit. Gejala yang timbul pada demam typhoid adalah demam dengan suhu 39 – 40 °C, kejang perut, sakit kepala, hilang nafsu makan, dan konstipasi. Penderita mungkin mengalami perforasi dan pendarahan usus dan koma. Penderita yang telah sembuh seringkali menjadi *asymptomatic carriers* dimana organisme ini

tetap berada dalam kantong empedu dan usus. Sedangkan gastroenteritis digejala dengan mual, muntah, kejang perut, dan diare (Ziprin dan Hume 2001).

Menurut Simanjuntak (1993) *Salmonellosis* adalah infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella* yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Setelah 12 – 72 jam terinfeksi akan timbul gejala demam, diare, kram perut, pusing dan mual. Gejala ini dapat berlangsung selama 7 hari.

Virulensi *Salmonella* disebabkan oleh:

- a. kemampuan menginvasi sel-sel epitel inang
- b. mempunyai antigen permukaan yang terdiri dari atas simpai lipopolisakarida
- c. kemampuan melakukan replikasi interseluler
- d. menghasilkan beberapa toksin spesifik
- e. kemampuan berkolonisasi pada ileum dan kolon
- f. kemampuan menginvasi lapisan epitel intestin dan berkembang dalam sel-sel limfoid

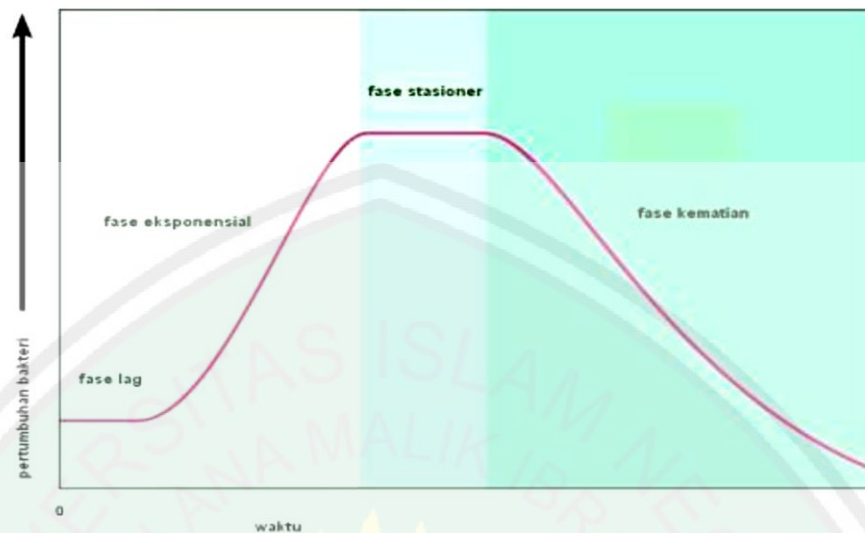
Pangan yang sering terkontaminasi *S. typhi* adalah telur, ikan, daging ayam, daging sapi, susu dan hasil olahannya. Keracunan pangan oleh *Salmonella* disebabkan karena pangan mengandung *Salmonella* dalam jumlah yang signifikan yaitu 10⁷ sel (Jay, *et al.*, 2005). Mekanisme demam tyfoid didahului oleh pelekatan bakteri *Salmonella* melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau tinja dari seseorang pengidap atau penderita demam typoid (karier). Kuman yang keluar bersama tinja dapat bertahan lama di alam dan menjadi sumber penularan bagi banyak orang. Tifus masih bersifat endemis dalam suatu area, maka air yang berasal dari sungai atau danau yang digunakan untuk

konsumsi masyarakat dan sering terkontaminasi limbah merupakan sumber infeksi utama (Mastroeni dan Maskell, 2005). Bakteri *S. typhi* masuk melalui mulut dan hanyut ke saluran pencernaan. Apabila bakteri masuk ke dalam tubuh manusia, tubuh akan berusaha untuk mengeliminasinya. Tetapi bila bakteri dapat bertahan dan jumlah yang masuk cukup banyak, maka bakteri akan berhasil mencapai usus halus dan berusaha masuk ke dalam tubuh yang akhirnya dapat merangsang sel darah putih untuk menghasilkan interleukin dan merangsang terjadinya gejala demam, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut, gangguan buang air besar serta gejala lainnya (Darmawati, 2009). Dosis infeksi rata-rata untuk menghasilkan infeksi klinik atau subklinik adalah $10^5 - 10^8$ cfu/mL *Salmonella* (tetapi mungkin hanya 10^3 cfu/mL untuk *S. typhi*). Faktor yang berperan dalam perlawanan infeksi *Salmonella* antara lain asam lambung, flora mikroba usus normal, dan imunitas lokal pada usus (Brooks, *et al.*, 2013).

2.10.4 Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*

Dwidjoseputro (1998) menyatakan bahwa pertumbuhan sel adalah bertambah besarnya sel-sel baru hingga masing-masing sel-sel baru tersebut menjadi sel-sel induk. Pertumbuhan sel dimulai setelah terjadi pembelahan sel, misalnya sel berbentuk *coccus* akan membelah diri menjadi dua setengah bola, kemudian keduanya tumbuh menjadi sebesar induk *coccus*. Pertumbuhan sel dipengaruhi oleh beberapa faktor luar, antara lain media, kelembaban, pH dan suhu. Apabila faktor-faktor luar tersebut tidak menguntungkan maka pertumbuhan

sel akan terhambat karena akan mempengaruhi penyerapan zat-zat makanan yang tersedia di dalam media dan begitu pula sebaliknya.



Gambar 2.14 Grafik Pertumbuhan Bakteri (Rochani, dkk., 2015)

Pertumbuhan bakteri menurut Prescott *et al.* (2008) dibagi menjadi empat fase, antara lain:

1. Fase Adaptasi (Lag)

Pada fase ini sel belum mengalami pertumbuhan dan masih beradaptasi dengan lingkungan dan media yang ada.

2. Fase Eksponensial (Log)

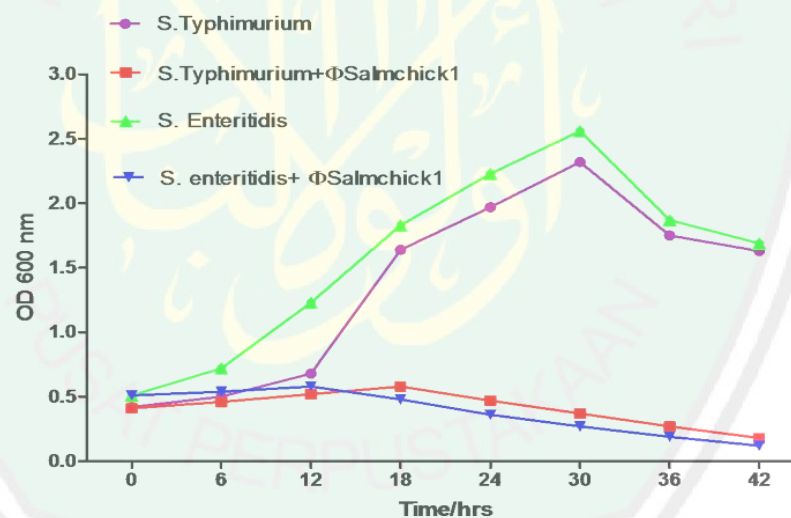
Pada fase ini pertumbuhan dan pembelahan bakteri berlangsung cepat, hal ini dimungkinkan karena pengaruh faktor-faktor luar yang menguntungkan sehingga mempermudah sel dalam penyerapan zat-zat makanan yang tersedia pada media.

3. Fase Stasioner

Pada fase ini pertumbuhan bakteri berhenti dan jumlah bakteri yang berkembang biak sama dengan bakteri yang mati dan kecepatan berkembang biak menjadi berkurang, selain itu pada fase ini juga terjadi akumulasi produk buangan yang toksik. Hal ini disebabkan oleh buruknya media dan perubahan pH sehingga terjadi penyusutan jumlah sel.

4. Fase Kematian

Pada fase kematian, jumlah sel yang mati semakin banyak dan melebihi jumlah sel yang membelah diri, hal ini disebabkan ketidaktersediaan nutrisi dan akumulasi produk buangan yang toksik.



Gambar 2.15 Kurva Pertumbuhan Bakteri (Abdallah, 2018)

Pada kurva pertumbuhan dapat dilihat pertumbuhan bakteri berdasarkan fasenya, yaitu fase lag, fase log (fase eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian. Fase log (fase eksponensial) ini merupakan fase yang cocok untuk

pengujian antibakteri. Kurva pertumbuhan diakhiri setelah melewati fase stasioner (Pratiwi, 2015). Pada kurva pertumbuhan *Salmonella typhimurium* menunjukkan fase lag (fase adaptasi) terjadi pada jam ke-0 sampai 12 jam dan mulai meningkat pertumbuhan selnya (fase log) dari 12 jam sampai jam ke-30 (Abdallah, 2018).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Mei 2019 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Peralatan gelas yang umum digunakan di dalam laboratorium. Seperangkat Peralatan Glass, Rotary Evaporator, Timbangan Digital, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Corong Pisa, Jarum OSE, *Incubator Shaker*, Spatula, *Lamina Air Flow* (LAF), Inkubator, Cawan Petri, Mikropipet, Jangka Sorong, Pinset, Chamber KLT, Neraca Analitik, Tabung Reaksi, Rak Tabung Reaksi, Filler, Lampu UV, Plat Silikagel 60 GF₂₅₄, Hotplate, Autoklaf, Oven, Spektroskopi UV-Vis dan Spektroskopi FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah Sampel Cacing Laor, Etanol, Etil Asetat, Petroleum Eter, Logam Mg, HCl 1 N, Kloroform, Asam Asetat Anhidrat, H₂SO₄ pekat, aquades, HCl pekat, FeCl₃ 1 %, NaCl 0,85 %, Larutan reagen (dragendorff, mayer), KBr, Medium NA, Medium NB, larutan dimetil sulfoksida (DMSO),

larutan Kloramfenikol, Aluminium foil, *Salmonella typhi*, kertas cakram dan kapas.

3.3 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif melalui dua tahap pengujian eksperimental di laboratorium, tahap pertama bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antibakteri ekstrak cacing laor. Cacing laor diekstraksi dengan variasi pelarut yang terdiri dari pelarut etanol, etil asetat dan petroleum eter. Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, hasil ekstraksi diuji antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar. Uji antibakteri dilakukan secara duplo dan diulang sebanyak 3 kali. Pada tahap kedua aktivitas antibakteri yang terbaik dari ekstrak akan diuji fitokimia, kemudian dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan KLT. Identifikasi senyawa kimia menggunakan spektrometer UV-Vis sedangkan menentukan gugus fungsinya menggunakan FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

- 1) Sampling
- 2) Ekstraksi Cacing Laor
- 3) Regenerasi Bakteri *S. typhi*
- 4) Pembuatan Inokulum Bakteri *S. typhi*
- 5) Perhitungan Jumlah Sel Bakteri *S. typhi*

- 6) Uji Aktivitas Antibakteri
- 7) Uji Fitokimia Senyawa Aktif dalam Cacing Laor
- 8) Pemisahan Senyawa Kimia dengan KLT
- 9) Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer UV-Vis
- 10) Identifikasi Senyawa dengan Spektroskopi FTIR

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Sampling

Tempat pengambilan sampel cacing laor (*Lysidice oela*) pada di Pantai tanjung Latuhalat, Desa Latuhalat, Kec. Nusaniwe, Kota Ambon, Provinsi Maluku, Indonesia. Pembuatan tepung cacing laor dilakukan di laboratorium Zoologi Universitas Pattimura Ambon-Maluku dengan nomor ayakan >90 mesh.

3.5.2 Ekstraksi Cacing Laor

Sebanyak 25 g serbuk cacing laor dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 mL. Selanjutnya ditambahkan 50 mL pelarut etanol 96 %. Pengocokan dilakukan dengan *shaker* selama 3 jam dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) dan dimaserasi selama 24 jam. Kemudian disaring residu hasil maserasi dengan corong *buchner* dan dilarutkan kembali menggunakan pelarut yang sama sampai berwarna bening. Filtrat yang diperoleh digabung dalam wadah penyimpanan ekstrak (Nurhikmah, 2017).

Perlakuan di atas juga diulang pada penggunaan pelarut etil asetat dan petroleum eter. Ekstrak etanol, etil asetat dan petroleum eter yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30 – 40 °C, atau dialiri

gas N₂ sampai pelarut menguap seluruhnya. Kemudian dihitung rendamennya dengan persamaan 3.1:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

3.5.3 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan dengan cara dibungkus menggunakan aluminium foil atau kapas. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*) (Volk dan Wheeler, 1993).

3.5.4 Pembuatan Media

3.5.4.1 Pembuatan Media NA (*Nutrien Agar*)

Media NA (*Nutrien Agar*) dibuat dengan cara diambil sebanyak 2,3 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam Erlenmeyer kemudian ditutup dengan kapas. Suspensi dipanaskan dan distirer menggunakan *hotplate* sampai mendidih dan kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi secara aseptik untuk membuat media agar miring. Media NA (*Nutrien Agar*) disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Media dibiarkan pada suhu ruang dengan posisi miring hingga memadat. Media NA ini digunakan untuk regenerasi bakteri *S. typhi* (Muhibah, 2013).

3.5.4.2 Pembuatan Media NB (*Nutrien Broth*)

Media NB (*Nutrien Broth*) diambil sebanyak 1,8 gram, dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam Erlenmeyer kemudian ditutup dengan kapas. Suspensi dipanaskan dan distirer menggunakan *hotplate* sampai mendidih dan kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi secara aseptik. Dipanaskan hingga mendidih dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup dengan kapas, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi (Rahmawati, 2014).

3.5.5 Regenerasi Bakteri *S. typhi*

Bakteri *S. typhi* yang berasal dari biakan murni diambil sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada media NA (*Nutrien Agar*) miring secara aseptik. Tabung didekatkan ke api saat menggoreskan bakteri. Tabung kemudian ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator (Muhibah, 2013).

3.5.6 Inokulum Bakteri *S. typhi*

Hasil regenerasi bakteri *S. typhi* diambil sebanyak 1 ose disuspensikan dalam 20 mL media NB secara aseptik dan dihomogenkan. Kemudian dihomogenkan dengan *shaker* selama 18 jam (Inokulum Stok). Kepekaan suspensi Bakteri *S. typhi* diseragamkan dengan mengukur *optical density* (OD) yakni sebesar 0,5 pada panjang gelombang 620 nm. Nilai OD 0,5 tersebut setara dengan kepadatan sel 10^8 cfu/mL (Inokulum Kerja) (Rahmawati, 2014).

3.5.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri *S. typhi*

Tabung reaksi sebanyak 10 buah diisi dengan NaCl 0,85 % steril dengan volume 9 mL. Inokulum bakteri *S. typhi* diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung pertama lalu dihomogenasi dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Larutan dari tabung pertama dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung kedua lalu dihomogenasi sehingga diperoleh tingkat kedua (10^{-2}). Dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-10} .

Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode *total plate count* (TPC). Penanaman bakteri ke media NA dimulai dari pengenceran 10^{-5} sampai pengenceran 10^{-10} dengan mengambil sebanyak 0,1 mL lalu ditanamkan pada media padat NA secara *pour plate*. Cawan petri digoyang-goyang hingga merata dan didiamkan hingga membeku kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam (Harmita, dkk., 2008). Cara menghitung, dipilih cawan petri yang mempunyai koloni antara 30 – 300. Perhitungan jumlah bakteri ditunjukkan pada persamaan 3.2:

$$\text{Perhitungan jumlah bakteri (cfu)} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{fp} \dots \dots \dots (3.2)$$

3.5.8 Pembuatan Larutan Kontrol

3.5.8.1 Pembuatan Larutan DMSO

DMSO (*dimetilsulfoksida*) 10% digunakan sebagai pengencer (pelarut pembawa ekstrak) dan digunakan sebagai kontrol negatif dalam uji daya hambat. Ekstrak cacing laor diencerkan dengan DMSO dan akuades. Untuk mendapatkan

konsentrasi DMSO 10 % maka dibutuhkan DMSO sebesar 10 ml dan ditambah akuades sebesar 90 ml (Assidqi, 2012).

3.5.8.2 Pembuatan Larutan Kloramfenikol

Kloramfenikol digunakan ekstrak cacing laor sebagai kontrol positif dalam uji daya hambat. Ditimbang sebanyak 0,375 gram obat Colsancetine (tiap kapsul mengandung 250 mg kloramfenikol) kemudian dilarutkan kedalam 3 mL aquades pada Erlenmeyer dan diaduk hingga larut kemudian dihomogenkan, setelah itu larutan kloramfenikol kemudian dimasukkan kedalam vial. (Nurwahida, dkk., 2018).

3.5.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan 3 ekstrak cacing laor (etanol, petroleum eter, dan etil asetat) dengan konsentrasi 100 % (Ekstrak murni tanpa pengenceran). Kemudian ekstrak etanol cacing laor dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi (25 mg/mL; 50 mg/mL; 75 mg/mL; 100 mg/mL; 125 mg/mL) (Elayaraja, *et al.*, 2010). Konsentrasi kontrol positif kloramfenikol dibuat dengan konsentrasi 1 mg/mL dan konsentrasi kontrol negatif DMSO dibuat dengan konsentrasi 25 mg/mL dan 125 mg/mL. Uji antibakteri dilakukan berdasarkan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*) dengan menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas *whatman* dengan diameter 7 mm.

Langkah pertama yaitu disiapkan 3 ekstrak cacing laor dan kontrol sesuai konsentrasi diatas. Kemudian secara aseptik kertas cakram di resapkan pada masing-masing ekstrak cacing laor dan larutan kontrol. Proses peresapan

dilakukan dengan cara merendamkan kertas cakram pada ekstrak etanol, petroleum eter, dan etil asetat cacing laor serta larutan kontrol DMSO dan kloramfenikol selama 30 menit. Perlakuan di atas diulang untuk penggunaan variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor.

Langkah kedua yaitu larutan bakteri *S. typhi* (Inokulum Kerja) diambil sebanyak 0,1 mL dan di masukkan ke dalam cawan petri steril. Secara *pour plate* media NA (*Nutrien Agar*) dipanaskan hingga mencair, kemudian didinginkan sampai suhu 40 °C dan dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi larutan bakteri. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram diambil dengan pinset steril dan diletakkan diatas permukaan media bakteri (Medium padat NA dalam cawan petri) dan ditekan sedikit. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai muncul daerah hambatan (Arifin, 2013).

Uji aktivitas antibakteri pada masing-masing pelarut dan pada variasi konsentrasi dilakukan secara duplo dan diulang sebanyak 3 kali. Diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong untuk menentukan aktivitas bakteri. Sampel yang mempunyai aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Luas zona hambat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \text{Zona hambat keseluruhan} - \text{diameter cakram} \dots \dots \dots (3.3)$$

Hasil dari pengukuran zona hambat dibandingkan kriteria kekuatan daya hambat bakteri yang dapat diketahui pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Katagori Diameter Zona Hambat

Hambat Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
10 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

Sumber: Davis dan Stout (2009)

3.5.10 Uji Fitokimia Golongan Senyawa Aktif dalam Cacing Laor

Metode yang digunakan diambil dari metode yang digunakan oleh Kristianti dkk. (2008) dengan sedikit modifikasi. Pada fraksi dilakukan identifikasi kandungan kimia antara lain flavonoid, terpenoid, saponin, tannin, fenolik dan alkaloid.

3.5.10.1 Uji Flavonoid

Ekstrak cacing laor pekat dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1 – 2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambahkan logam Mg dan 0,5 tetes HCl pekat. Warna merah, kuning atau jingga pada larutan, menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.10.2 Uji Steroid dan Triterpenoid.

Ekstrak cacing laor pekat dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Kemudian ditambahkan dengan 1 – 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, sedangkan steroid ditunjukkan dengan warna hijau kebiruan pada larutan.

3.5.10.3 Uji Saponin

Ekstrak cacing laor pekat dimasukkan sebanyak 1 mg ke dalam tabung reaksi dan ditambah aquades 10 mL dan dikocok selama 10 menit, jika terbentuk busa ditambahkan 2 – 3 tetes HCL 1 N. Apabila busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1 – 3 cm, maka ekstrak menunjukkan adanya saponin.

3.5.10.4 Uji Tanin

Ekstrak cacing laor pekat dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1 %. Warna hijau kehitaman atau biru tinta menunjukkan adanya tanin.

3.5.10.5 Uji Fenolik

Ekstrak cacing laor pekat sebanyak 1 mg ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1 %. Ekstrak positif menganandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru dan hitam pekat.

3.5.10.6 Uji Alkaloid

Ekstrak cacing laor pekat dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL HCl 2 % dan dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi. Tabung 1 ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendorff dan tabung 2 ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Mayer. Alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan jingga pada tabung 1 dan endapan kekuning-kuningan pada tabung 2.

3.5.11 Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLT Analitik

Ekstrak yang menunjukkan aktivitas antibakteri selanjutnya diuji secara kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dilakukan dengan menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam. Plat silika gel dibuat dengan ukuran lebar 1x10 cm² pada ujung atas dan bawah diberi batas 1 cm (Shanti, 2007). Ekstrak yang akan diuji sebanyak 0,001 gram dilarutkan dalam 2,5 mL pelarut (4.000 ppm) yang digunakan, kemudian ditotolkan 10 kali $\pm$ 1 cm dari bawah plat. Pengembang (fasa gerak) yang digunakan masing-masing senyawa adalah: steroid (n-heksan 1 : 1 etil asetat), alkaloid (klorofom 4 : 1 metanol), saponin (klorofom 13 : 7 metanol : 2 air), triterpenoid (n-butanol 4 : 1 Amoniak), flavonoid (etil asetat 4,5 : 0,5 metanol) dan fenolik (Toluen 3 : 3 etil asetat : 0,2 asam format). Selanjutnya dikeringkan dan dielusi dengan eluen pada *chamber* KLT yang telah dijenuhkan dan ditutup rapat. Setelah eluen mencapai garis atas, pelat dikeluarkan dan keringkan (Jekti, dkk., 2008).

Bercak diamati secara visual dengan lampu UV pada panjang gelombang 245 nm dan 366 nm dan menggunakan pereaksi semprot universal untuk menampakkan bercak noda dengan reagen Liebermann-Burchard. Kemudian nilai R_f dihitung dan diperhatikan bentuk spot pada berbagai eluen.

3.5.12 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak etanol cacing laor yang telah dilarutkan berdasarkan pelarutnya dengan konsenrasi 100 ppm Selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200 – 800 nm (Maharani, dkk., 2016).

3.5.13 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR

Karakterisasi pada penelitian ini menggunakan Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*). Senyawa target yang berbentuk padat digerus dengan garam KBr (2 : 98) lalu dibuat pelet menggunakan diameter 7 mm. Pelet kemudian diletakkan pada *sample holder* dan diukur serapannya menggunakan spektrometer FTIR pada daerah $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Sampel yang akan dianalisis harus dipastikan dalam kondisi kering serta bebas dari kotoran sekitar wadah penampung. Data hasil analisis selanjutnya diolah dengan menggunakan Ms. Excel 2010 (Sigee, *et al.*, 2002).

3.5.14 Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian tahap pertama yaitu berupa diameter zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri dari berbagai jenis ekstrak cacing laor dan variasi konsentasi ekstrak etanol cacing laor, ekstrak terbaik ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang paling luas. Data tersebut kemudian dianalisis dengan uji ANOVA menggunakan SPSS 16. Analisa secara statistik ini digunakan untuk mengetahui nilai signifikansi pengaruh variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor dalam uji antibakteri *S. typhi*. Hipotesis yang diajukan pada analisa ini adalah:

1. $H_0 = 0$ (Hipotesis awal), maka tidak ada perbedaan pengaruh variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor dalam uji antibakteri *S. typhi*
2. $H_1 \neq 0$ (Hipotesis alternatif), maka minimal ada satu pengaruh variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor dalam uji antibakteri *S. typhi*

Hipotesis tersebut diuji berdasarkan dua aspek yaitu uji F dan uji probabilitas (p-value/sig.). Pada pengujian nilai F dinyatakan jika nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka perlakuan ekstrak terdapat pengaruh sehingga H_0 ditolak dan begitu juga sebaliknya. Uji probabilitas dinyatakan jika signifikansi (sig.) kurang dari alpha (5 %) maka H_0 ditolak dan sebaliknya untuk mengetahui pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas antibakteri *S. typhi*.

Selanjutnya dilakukan uji perbandingan berganda (uji lanjut) dengan menggunakan metode statistik uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau disebut juga sebagai LSD (*Least Significance Test*). Uji perbandingan berganda digunakan untuk menguji perlakuan dari faktor dimana pengujian ANOVA dinyatakan signifikan atau terdapat minimal 1 pasang perlakuan yang memiliki pengaruh yang berbeda, dengan demikian untuk mengetahui perlakuan mana yang memiliki pengaruh yang berbeda maka dilakukan pengujian lanjutan atau uji perbandingan berganda. Uji BNT dinotasikan dengan huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda antara rata-rata zona hambat bakteri terhadap perlakuan, sedangkan jika hurufnya berbeda maka sebaliknya.

Penelitian tahap kedua yaitu identifikasi senyawa kimia dan gugus fungsi dari ekstrak etanol cacing laor dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Masing-masing data disajikan dalam bentuk tabel dan diinterpretasikan sesuai dengan hasil yang diperoleh.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah cacing laut jenis *Lysidice oele* yang sudah kering berbentuk butiran serbuk, diperoleh dari Universitas Pattimura yang berasal dari Pantai Tanjung Latuhalat, Desa Latuhalat, Kec. Nusaniwe, Kota Ambon, Provinsi Maluku. Preparasi sampel terdiri dari 4 tahap yaitu pencucian, pengeringan, penghalusan dan pengayakan. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara dikering anginkan yang bertujuan untuk menurunkan kadar air dan mempermudah proses penyimpanan. Proses penghalusan dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel. Sampel dalam bentuk serbuk dengan tingkat kehalusan yang tinggi dengan nomor ayakan >90 mesh, kemungkinan terjadinya pemecahan sel-sel akan semakin besar sehingga memudahkan pelarut mengambil kandungan yang terdapat dalam sampel dan proses ekstraksi akan semakin cepat (Voight, 1995). Berat sampel kering yang diperoleh sebesar 121,82 g dengan kadar air 47,58 %. Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam biomassa cacing laor. Tinggi rendahnya kadar air akan mempengaruhi proses maserasi. Semakin rendah kadar air dapat mempermudah proses penarikan zat aktif dalam sampel karena pelarut mudah menembus dinding sel sampel tanpa adanya gangguan dari molekul air. Berikut merupakan gambar dari proses preparasi sampel cacing laor yang ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Sampel Cacing Laor (a) Basah, (b) Kering/Serbuk

4.2 Ekstraksi Cacing Laor

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi digunakan untuk mengisolasi produk alam dari jaringan asli hewan maupun tumbuhan. Ekstraksi cacing laor ini menggunakan metode maserasi bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan menggunakan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Metode maserasi dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa aktif dengan baik melalui perendaman tanpa pemanasan sehingga dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang labil dan tidak tahan panas (Dean, 2009). Adanya sistem perendaman ini maka pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif. Maka zat aktif yang terdapat dalam sel akan larut dalam pelarut (Khoiriyah, 2014). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam terhadap pelarut tersebut (Nendissa, 2012).

Prinsip utama dalam maserasi adalah mengekstrak senyawa aktif (metabolit sekunder) yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya atau dikenal dengan istilah “*like dissolve like*” (Khopkar, 2003). Ekstraksi cacing laor (*Lysidice oele*) dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 3 pelarut yang memiliki perbedaan kepolaran yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan petroleum eter (non polar) dengan harapan memperoleh pelarut terbaik yaitu pelarut yang dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder dalam jumlah besar dan dapat mempunyai aktivitas antibakteri yang tinggi.

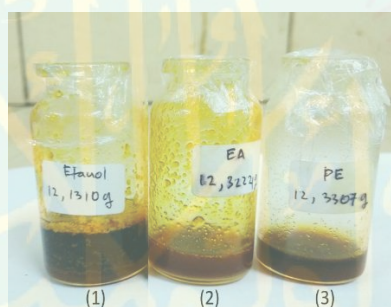


Gambar 4.2 Hasil Maserasi Cacing Laor dari Berbagai Pelarut: (1) Etanol, (2) Etil Asetat, (3) Petroleum Eter

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara, serbuk cacing laor ditambahkan ke masing-masing pelarut dengan perbandingan (1 : 2) selama 24 jam dengan menggunakan *shaker water bath* pada kecepatan 120 rpm. Pengadukan bertujuan agar kontak antara sampel dengan pelarut semakin sering terjadi. Kemudian larutan disaring dengan *vacum buchner* dan dilakukan pergantian pelarut sebanyak 3 kali sampai diperoleh pelarut berwarna putih bening. Perubahan warna filtrat yang diperoleh dengan pelarut mulai dari warna coklat pekat hingga coklat

bening yang dapat diasumsikan bahwa senyawa aktif yang dapat larut telah terlarut semua. Hasil maserasi ekstrak kasar dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Suhu 40 °C digunakan karena lebih kecil dari suhu pelarut sehingga senyawa aktif pada ekstrak tidak rusak. Proses evaporasi ini dilakukan untuk memisahkan antara ekstrak dengan pelarutnya. Selanjutnya ekstrak pekat dialiri gas N₂, hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut yang mungkin masih menempel pada ekstrak. Hasil pengamatan ekstraksi cacing laor dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan Tabel 4.1.



Gambar 4.3 Ekstrak Kasar Cacing Laor dari Berbagai Pelarut: (1) Etanol, (2) Etil Asetat, (3) Petroleum Eter

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Cacing Laor dari Berbagai Pelarut

Jenis Ekstrak	Warna Filtrat	Warna Ekstrak Kasar	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
Etanol	Coklat tua	Coklat tua	6,9481	27,79
Etil Asetat	Coklat	Coklat	2,8335	16,89
Petroleum Eter	Coklat	Coklat	1,4081	5,63

Berdasarkan pada Tabel 4.1 dengan pelarut yang berbeda diperoleh warna filtrat dan nilai rendemen. Hasil ekstrak menunjukkan bahwa warna filtrat dan warna ekstrak cacing laor pada pelarut etanol berwarna coklat tua sedangkan pada

pelarut etil asetat dan petroleum eter memiliki warna yang sama yaitu coklat. Menurut Nurfitiani (2015) bahwa warna filtrat menunjukkan tertariknya komponen-komponen senyawa aktif dari sampel oleh pelarut. Semakin pekat warna filtrat, semakin banyak senyawa yang tertarik.

Jenis pelarut juga mempengaruhi terhadap hasil ekstraksi dan rendemen ekstrak yang diperoleh pada pelarut etanol yaitu sebesar 6,9481 g dengan nilai rendemen sebesar 27,79 %. Berbeda dengan kedua pelarut yang lainnya, pada pelarut etil asetat nilai ekstrak yang diperoleh lebih rendah yaitu sebesar 2,8335 g dengan nilai rendemen sebesar 16,89 %. Sedangkan pada pelarut petroleum eter nilai ekstrak yang diperoleh sangat rendah yaitu sebesar 1,4081 g dengan nilai rendemen sebesar 5,63 %.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi maserasi cacing laor dengan berat sampel yang sama dapat menghasilkan nilai rendemen yang berbeda. Hal ini disebabkan karena perbedaan polaritas dari pelarut (Megha, *et al.*, 2014). Menurut Mukhriani (2014) menyatakan bahwa besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektivan proses ekstraksi. Nurhikmah (2017) menambahkan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas proses ekstraksi adalah jenis pelarut yang digunakan, ukuran partikel bahan, metode, dan lamanya ekstraksi yang dilakukan.

Data hasil rendemen ada hubungannya dengan banyaknya kandungan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila rendemen semakin banyak maka dapat disimpulkan juga kandungan senyawa aktifnya juga semakin banyak sebagaimana dilaporkan Nurhayati (2009) bahwa tingginya senyawa bioaktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya nilai rendemen yang dihasilkan. Tingginya nilai rendemen pada pelarut polar dikarenakan senyawa

aktif umumnya masih dalam bentuk ikatan glikosida yaitu senyawa yang terdiri atas senyawa gula (glikon dan metabolit primer) dan senyawa bukan gula (aglikon dan metabolit sekunder) (Utami, 2014). Hasil ini menunjukkan bahwa sampel cacing laor lebih banyak mengandung senyawa polar sehingga senyawa-senyawa aktif pada cacing laor relatif larut dalam pelarut polar. Hal ini dibuktikan dari hasil maserasi dimana ekstrak etanol memperoleh rendemen yang lebih besar dan warna yang lebih pekat jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan petroleum eter. Hasil yang sama terjadi pada penelitian Siregar (2011) dimana ekstrak dengan pelarut etanol pada berbagai jenis rumput laut memiliki berat ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan petroleum eter.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, diketahui bahwa senyawa flavonoid dan saponin merupakan senyawa dengan kandungan tertinggi dibandingkan dengan senyawa bioaktif yang lainnya. Hal ini dikarenakan flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil, sehingga akan mudah larut dalam senyawa polar seperti etanol (Rijke, 2005). Sedangkan senyawa saponin memiliki ikatan glikosida, sehingga mudah larut dalam pelarut polar. Saponin memiliki gugus non polar berupa gugus steroid dan triterpenoid, akan tetapi lebih cenderung bersifat polar karena ikatan glikosidanya. Suharto *et al.* (2012) menambahkan bahwa saponin paling tepat diekstraksi dari sampel yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70 – 95%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa etanol merupakan pelarut terbaik untuk mengekstrak senyawa flavonoid dan saponin pada cacing laor. Sehingga pada penelitian utama digunakan ekstrak etanol cacing laor.

4.3 Regenerasi dan Pembuatan Inokulum

4.3.1 Regenerasi *S. typhi*

Regenerasi bakteri uji *S. typhi* dilakukan dengan memindahkan atau memperbarui biakan bakteri dari biakan lama (murni) ke medium tumbuh yang baru (media NA miring) secara berkala. Regenerasi bertujuan untuk mendapatkan bakteri dengan kemampuan tumbuh yang lebih baik, memperbarui nutrisi makanan yang terkandung dalam media sehingga bakteri akan tetap hidup dan untuk menyelamatkan isolat bakteri dari kontaminasi bakteri lain.

Regenerasi di media NA bertujuan agar bisa disimpan dalam waktu yang cukup lama (biakan simpan) karena akan memiliki masa simpan yang lebih lama pada media padat dibandingkan pada media cair, bakteri mengalami pertumbuhan lebih cepat karena bakteri butuh *water activity* (air bebas) dan kadar air yang tinggi, selain itu mengaktifkan bakteri yang semula inaktif menjadi aktif membelah kembali. Kondisi bakteri yang inaktif menjadi kurang optimal jika digunakan pada pembuatan inokulum, selain itu untuk mempercepat fase adaptasi dan mempersiapkan sel pada fase eksponensial. Bakteri yang berada dalam fase eksponensial ini mensintesis enzim dan mengatur aktivitasnya sehingga mampu tumbuh lebih efisien dalam kondisi baru dan muda (Hartanti 2010).

Isolat *S. typhi* (biakan murni) sebelum digunakan disimpan dilemari pendingin untuk menghambat pertumbuhan bakteri menuju ke fase kematian. Regenerasi *S. typhi* dilakukan dengan menggunakan kawat ose yang sudah dipanaskan diatas bunsen untuk mematikan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Kemudian sebanyak satu ose isolat bakteri (biakan murni) di *streak* pada media NA miring lalu diinkubasi selama 24 jam di inkubator pada suhu 37

°C. Menurut Pelczar dan Chan (2008) waktu inkubasi yang digunakan untuk Regenerasi pada umumnya adalah 24 jam.

4.3.2 Pembuatan Inokulum *S. typhi*

Inokulum merupakan kultur mikroba yang diinokulasikan ke dalam medium pada saat kultur mikroba pada fase pertumbuhan (Suriawiria, 2005). Inokulum *S. typhi* dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dari media NA miring sebanyak satu ose yang kemudian ditumbuhkan di media NB. Media NB yang berbentuk cair digunakan karena dibandingkan medium padat, medium cair memiliki beberapa kelebihan yaitu jenis dan konsentrasi komponen-komponen medium dapat diatur sesuai dengan yang diinginkan, dapat memberikan kondisi optimum untuk pertumbuhan, dan pemakaian medium lebih efisien. Pembuatan inokulum pada media NB bertujuan untuk menumbuhkan bakteri yang siap digunakan sebagai starter dalam suatu proses uji aktivitas. Pembuatan stok inokulum dilakukan secara aseptis didalam *laminar air flow* (LAF) untuk menghindari kontaminasi dari bakteri lain.

Menurut *Bacteriological Analytical Manual* (BAM) (2001) pada jam ke 18 – 24 ini merupakan waktu dimana bakteri *S. typhi* dimungkinkan berada pada fase logaritmik. *S. typhi* dapat diinokulasikan pada media NB setelah jam ke-18 untuk pembuatan inokulum. Fase logaritmik merupakan fase yang cocok untuk pengujian antibakteri karena pada fase tersebut bakteri aktif melakukan pembelahan secara konstan, terjadi pertumbuhan maksimal, dan jumlah sel meningkat menjadi 2 kali lipat (Monack, 2004).

Berakhirnya fase logaritmik menunjukkan bahwa bakteri akan segera memasuki fase stasioner dimana pada fase ini jumlah mikroorganisme yang membelah dan sel yang mati seimbang. Pada fase stasioner terjadi akumulasi produk buangan yang toksik dengan terbentuknya metabolit sekunder (misalnya antibiotik) karena kondisi lingkungan merugikan, terutama kondisi sel yang menjadi kering, kekurangan nutrisi, komponen racun, kondisi stress dan antagonis (Fitria, 2017). Setelah dilakukan inokulasi *S. typhi* maka tahap selanjutnya dilakukan pengukuran *Optical Density* dan Perhitungan *Total Plate Count* untuk mengetahui seberapa banyak jumlah sel bakteri *S. typhi* yang hidup.

Pengukuran *Optical Density* (OD) termasuk ke dalam metode pengukuran pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini bertujuan untuk mengukur tingkat kekeruhan/turbiditas dengan melihat massa sel yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Pertumbuhan sel bakteri dalam suatu medium cair meningkatkan kekeruhan media, sehingga akan mempengaruhi jumlah sinar yang dapat ditransmisikan menembus medium. Pengukuran OD dari inokulum dilakukan dengan cara mengambil inokulum induk (inokulum stok) sebanyak 4 mL kemudian diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 620 nm. Menurut Febriyansari (2007) panjang gelombang 600 – 625 digunakan untuk melihat tingkat kekeruhan larutan yang berwarna kuning sampai coklat.

Perhitungan jumlah bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) merupakan analisis untuk menguji cemaran mikroba dengan menggunakan metode pengenceran dan metode cawan tuang (*pour plate*) (Dwidjoseputro, 2005). Metode pengenceran berfungsi untuk mengurangi jumlah mikroba

tumbuh, sehingga mempermudah penghitungan koloni yang muncul. Semakin tinggi jumlah mikroba yang terdapat di dalam sampel, semakin tinggi pengenceran yang harus dilakukan. Prinsip dari TPC adalah jika sel mikroba masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung tanpa menggunakan mikroskop. Cara penanaman kultur bakteri ke dalam cawan yaitu dengan metode cawan tuang (*pour plate*). Metode ini mudah dilakukan karena tidak membutuhkan keterampilan khusus dengan hasil biakan yang cukup baik. Jika sudah didapatkan hasil jumlah koloninya, kemudian disesuaikan berdasarkan SPC (*Standard Plate Count*) (Fardiaz, 2004).

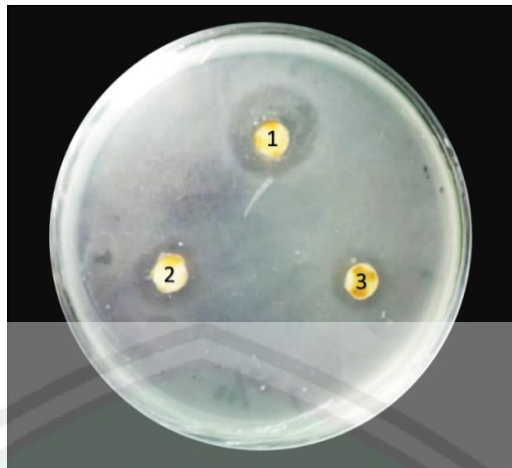
Metode TPC ini dilakukan dengan mengencerkan sumber isolat bakteri (inokulum kerja) kedalam 9 mL garam fisiologis (NaCl 0,85 %) dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-10} . NaCl berfungsi untuk menjaga keseimbangan fisiologis mikroba dan sebagai penyangga pH agar sel bakteri tidak rusak akibat menurunnya pH lingkungan. Tujuan pengenceran dilakukan beberapa kali agar biakan yang didapatkan tidak terlalu padat atau memenuhi cawan sehingga dapat mengganggu pengamatan. Suspensi yang digunakan yakni 1 mL dan dihomogenkan dengan *vortex*. Campuran NaCl dan suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 0,1 mL dan dilanjutkan dengan menuangkan media NA. Hasil akhir dari uji TPC berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Perhitungan koloni dilakukan pada cawan petri dengan jumlah koloni antara 30 – 300. Hasil TPC dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri yang dapat dihitung, dikalikan faktor pengencerannya. Hasil

pengukuran TPC diperoleh sebesar $2,75 \times 10^{12}$ cfu/mL yang setara dengan nilai OD 0,5.

4.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Proses uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*) terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Metode difusi agar digunakan dalam penelitian ini karena praktis, mudah dilakukan, dan cukup teliti. Serta metode ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini menggunakan kertas cakram (*paper disk*) dengan diameter 7 mm yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibakteri. Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Prinsip dari metode ini adalah terdifusinya zat antibakteri yang berada pada kertas cakram menuju permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri.

Pengujian antibakteri dilakukan dengan tujuan menganalisis kemampuan ekstrak etanol, etil asetat, dan petroleum eter cacing laor dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* yang dilihat dari zona bening yang ditimbulkan disekeliling kertas cakram. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin efektif zat tersebut sebagai antibakteri. Davis dan Stout (2009) membagi kekuatan daya antibakteri menjadi empat kategori, yaitu menghambat lemah (<5 mm), sedang (5 – 10 mm), kuat (10 – 20 mm), dan sangat kuat (>20 mm). Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak cacing laor terhadap bakteri *S. typhi* dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.2.



Gambar 4.4 Zona Hambat dari Tiga Jenis Ekstrak Cacing Laor (1) Etanol, (2) Etil Asetat, (3) Petroleum Eter

Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Cacing Laor terhadap Bakteri *S. typhi*

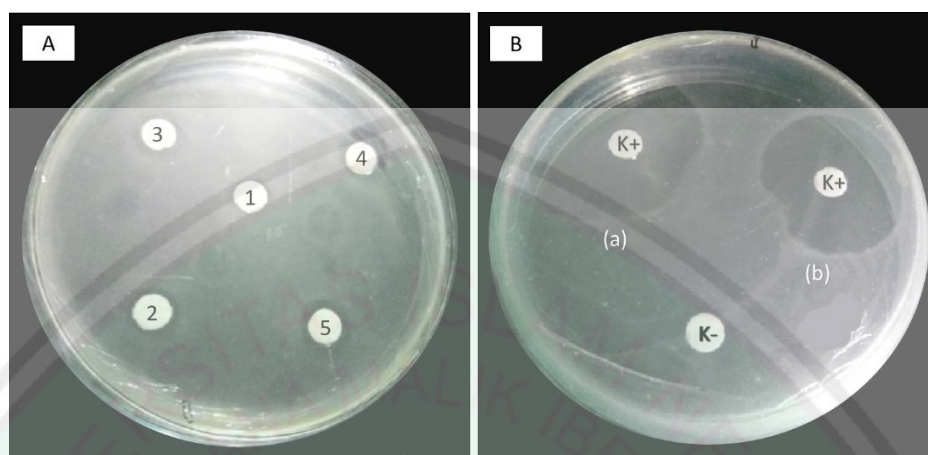
Jenis Ekstrak	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Daya Hambat
Etanol	10,16	Kuat
Etil Asetat	6,83	Sedang
Petroleum Eter	5,75	Sedang

Hasil uji aktivitas antibakteri melalui pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa dari 3 jenis ekstrak (etanol, petroleum eter, dan etil asetat) cacing laor dengan konsentrasi 100 % (ekstrak kasar tanpa pengenceran) terbukti memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri *S. typhi*. Berdasarkan Tabel 4.2 terlihat bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak petroleum eter dan etil asetat. Rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh pada ekstrak etanol yakni sebesar 10,16 mm termasuk dalam kategori kuat, sedangkan pada ekstrak etil asetat dan petroleum eter memiliki rata-rata diameter zona hambat masing-masing sebesar 6,83 mm dan 5,75 mm termasuk dalam kategori sedang. Zona hambat yang dihasilkan dari tiga jenis ekstrak cacing laor terhadap *S. typhi* dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan Nurwahida (2018) yang menggunakan ekstrak etanol 96 % cacing laut *Perinereis aibuhitensis* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* yaitu pada konsentrasi 75 mg/mL (-) tidak memiliki zona bening yang terbentuk, 150 mg/mL (9,7 mm); 300 mg/mL (9,5 mm) termasuk dalam kategori sedang, dan 600 mg/mL (12,1 mm) termasuk dalam kategori kuat. Hasil yang sama juga diperoleh pada penelitian Elayaraja (2010) yang menggunakan ekstrak metanol cacing laut *Perinereis cultrifera* hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* (3 mm) pada konsentrasi 50 mg/mL. Selain itu, pada penelitian Apriyandi (2017) yang menggunakan ekstrak etanol cacing laut *Nereis sp* mempunyai aktivitas antibakteri sebesar (2,15 mm) terhadap bakteri *S. typhi* pada 100 mg/mL. Tingginya nilai zona hambat ekstrak etanol cacing laor dalam penelitian ini diduga karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung terdistribusi ke dalam pelarut polar.

Tahap selanjutnya yaitu melakukan variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor. Ekstrak etanol lebih utama digunakan karena selain menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik juga memiliki randemen sangat tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan petroleum eter. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan variasi ekstrak etanol cacing laor terhadap bakteri *S. typhi* yang terlihat pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 25 mg/mL (3,7 mm), 50 mg/mL (4,93 mm) termasuk ke dalam kategori lemah, sedangkan daya hambat ekstrak etanol cacing laor pada konsentrasi 75 mg/mL (5,6 mm), 100 mg/mL (6,51 mm), 125 mg/mL (7,25 mm) termasuk ke dalam kategori sedang. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi menyebabkan efek

hambatan yang lebih tinggi sehingga mengakibatkan zona hambat yang dihasilkan di sekitar kertas cakram semakin lebar.



Gambar 4.5 Zona Hambat dari Berbagai Variasi Ekstrak Etanol Cacing Laor (A) dan Kontrol (B). (1) 25 mg/mL, (2) 50 mg/mL, (3) 75 mg/mL, (4) 100 mg/mL, (5) 125 mg/mL, (K+) Kontrol Positif: (a) 125 mg/mL dan (b) 25 mg/mL, dan (K-) Kontrol Negatif

Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Cacing Laor terhadap *S. typhi*

Jenis Ekstrak	Konsentrasi (mg/mL)	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Daya Hambat
Etanol	25	3,7 ^a	Lemah
	50	4,93 ^{ab}	Lemah
	75	5,6 ^{abc}	Sedang
	100	6,5 ^{bc}	Sedang
	125	7,25 ^c	Sedang
Kloramfenikol (+)	25	23,4	Sangat Kuat
	125	26,4	
DMSO (-)	10 %	-	Tidak Ada

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata (signifikan), sedangkan jika hurufnya sama maka sebaliknya.

Berdasarkan Hasil Uji Statistika *One Way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan. Hal tersebut berdasarkan pada uji nilai F dengan nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($11,250 > 3,48$) dan pada uji probabilitas dimana nilai sig. (0,001) lebih kecil dari alpha (0.05) maka hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima. Sehingga dapat

disimpulkan bahwa terdapat minimal satu pengaruh variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor dalam uji antibakteri *S. typhi*. Selanjutnya dilakukan uji perbandingan berganda (uji lanjut) dengan menggunakan metode statistik uji BNT.

Hasil uji BNT menunjukkan perbedaan notasi pada setiap variasi perlakuan dalam hal ini variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan bahwa variasi konsentrasi memiliki perbedaan nyata, sehingga setiap variasi perlakuan menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap konsentrasi ekstrak etanol cacing laor. Konsentrasi ekstrak 25 mg/mL memberikan perbedaan yang nyata (signifikan) terhadap variasi ekstrak 125 mg/mL. Rata-rata diameter zona hambat tertinggi yaitu pada variasi konsentrasi 125 mg/mL yang dimana dapat menghasilkan zona hambat sebesar 7,2500 mm dan terendah adalah pada variasi 25 mg/mL yaitu sebesar 3,7000 mm. Kemudian jika dibandingkan antara ekstrak dengan kontrol, kontrol (+) memiliki perbedaan yang jauh. Hal ini dilihat pada hasil rata-rata diameter zona hambat dimana kontrol (+) memiliki nilai jauh lebih tinggi sebesar 23,4 pada konsentrasi 25 mg/mL dan 26,4 pada konsentrasi 125 mg/mL termasuk ke dalam kategori kuat.

Sensitivitas bakteri *S. typhi* terhadap pemberian ekstrak etanol cacing laor berbeda-beda, hal ini ditandai dengan adanya peningkatan zona hambat seiring bertambahnya konsentrasi sampel uji. Menurut Jawetz dkk. (1996) menyatakan aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh 4 faktor, yaitu: konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Ningtyas (2010) menambahkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya. Penambahan

konsentrasi senyawa antibakteri diduga dapat meningkatkan penetrasi senyawa antibakteri ke bagian dalam sel mikroba yang akan merusak sistem metabolisme sel dan dapat mengakibatkan kematian sel. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin besar, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel (Maleki,*et al.*, 2008).

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol. Kontrol positif digunakan sebagai tolak acuan pada penentuan keaktifan ekstrak sebagai antibakteri (Nurfadilah, 2013). Penggunaan kloramfenikol ini disebabkan karena kloramfenikol termasuk antibiotik bakteriostatik berspektrum luas (Katzung, 2004). Antibiotik kloramfenikol mempunyai aktifitas bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan pada dosis tinggi juga bersifat bakterisida (Dian, dkk., 2015). Hasil pengujian menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada kloramfenikol lebih besar (26,4 mm) termasuk dalam kategori sangat kuat. Jika dibandingkan dengan zona hambat pada kontrol negatif dan ke 3 ekstrak cacing laor (etanol, petroleum eter, dan etil asetat) maka dapat dilihat bahwa hasil yang terbentuk dari 3 ekstrak cacing laor masih dibawah kontrol positif.

Aktivitas kloramphenikol dalam menghambat sintesis protein pada sel bakteri adalah dengan cara mengikat ribosom, yang menyebabkan sintesis protein terhenti (Dian, dkk., 2015). Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50 S, Sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom. Kloramfenikol berikatan secara spesifik dengan aseptor (tempat ikatan awal dari amino asil t-RNA) atau pada bagian peptidil yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptide (Katzung, 2004).

Kontrol negatif berupa pelarut DMSO 100 % yang merupakan pelarut untuk ekstrak etanol cacing laor, dimana pada uji aktivitas antibakteri tidak menghasilkan zona hambat terhadap *S. typhi*. Nether *et al.* (2012) menyebutkan bahwa kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. Tujuannya adalah sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri ekstrak. Dimetil Sulfoksida (DMSO) adalah senyawa organosulfur, yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air (Pratiwi, 2008). Tidak adanya zona hambat tersebut membuktikan bahwa zona hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh jenis pelarut melainkan karena aktivitas senyawa aktif yang ada pada ekstrak cacing laor sebagai antibakteri.

Menurut Pelczar *et al.*, (1998) untuk dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih 20 lapisan peptidoglikan yang tipis ($5 - 10 \text{ nm}^3$) dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya karena hanya mengandung sedikit lapisan petidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, kandungan senyawa saponin memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa lain. Saponin merupakan salah satu senyawa yang dikandung dalam ekstrak etanol cacing laor, bersifat antibakteri dengan bekerja efektif pada bakteri gram negatif. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri memiliki 3 cara, yaitu menghambat permeabilitas

membran sel, menghambat sintesis dinding sel dan menghambat sintesis protein dengan cara membuat senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen (Cannell, 1998 *dalam* Rinawati, 2011). Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat rusaknya membran sel. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu yang menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Pleczar dan Reid, 1972).

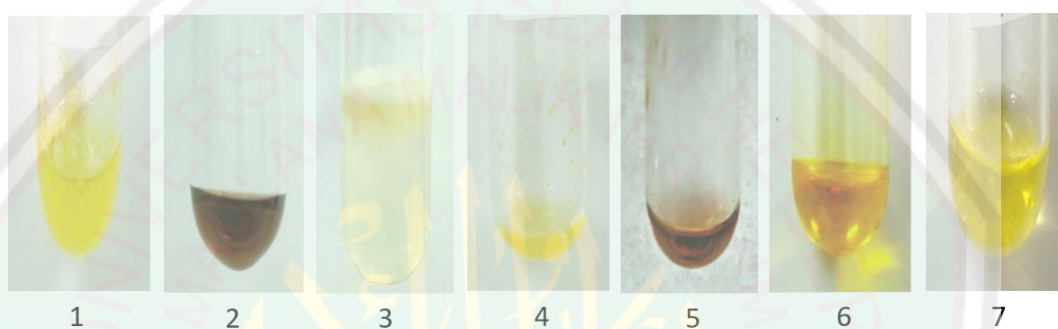
Sedangkan berdasarkan hasil analisis dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan pada pergeseran λ_{maks} 257 nm yang merupakan ciri khas dari senyawa flavonoid. Senyawa favonoid bersifat antibakteri melalui 3 mekanisme, yaitu: menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat sintesis dinding sel. Mekanisme kerja favonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat dilakukan melalui cincin B pada favonoid yang mempunyai peranan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat sintesis DNA dan RNA (Cushnie, 2005). Flavonoid menghambat fungsi membran sel bakteri melalui ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri (Cowan, 1999). Flavonoid merusak permeabilitas dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino yang bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa tanin sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri (Gunawan, 2009).

4.5 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Cacing Laor

Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder cacing laor dilakukan secara kualitatif menggunakan uji fitokimia, untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak. Identifikasi golongan senyawa aktif ini dilakukan dengan menggunakan reagen kimia. Secara umum uji fitokimia merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna. Pengujian golongan senyawa aktif cacing laor dilakukan pada ekstrak yang memiliki aktifitas antibakteri tertinggi. Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol cacing laor memiliki aktivitas antibakteri tertinggi, sehingga ekstrak etanol kemudian diidentifikasi senyawa metabolit sekundernya. Golongan senyawa aktif yang diuji adalah triterpenoid, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, fenol dan tanin. Pengujian senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode tabung yaitu dengan cara mengambil sedikit sampel ekstrak etanol cacing laor lalu ditambahkan reagen yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil identifikasi golongan senyawa aktif dalam masing-masing ekstrak cacing laor dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan Tabel 4.4.

Berdasarkan Tabel 4.8 dan Gambar 4.6 terlihat bahwa ekstrak etanol cacing laor mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, fenol, dan alkaloid. Senyawa saponin terkandung lebih banyak karena mampu menghasilkan busa yang lebih tinggi dari kategori yang menunjukkan adanya saponin yaitu 1 – 3 cm. Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan yang ditemukan oleh Erviani dan Arif (2017) dalam penelitiannya melakukan uji skrining fitokimia ekstrak cacing laut *Perinereis aibuhitensis*

mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoids/steroid dan tanin. Selain itu, Aninda (2016) juga menemukan bahwa ekstrak etanol cacing laut *Siphonosoma austral* mengandung senyawa saponin, flavonoid, steroid, dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol cacing laut *Eunice sicilensis* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoids/steroid dan tanin (Erviana, dkk., 2019).



Gambar 4.6 Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Cacing Laor (1) Flavonoid, (2) Steroid dan Triterpenoid, (3) Saponin, (4) Tanin, (5) Fenol, (6) Alkaloid I, dan (7) Alkaloid II

Tabel 4.4 Hasil Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Cacing Laor

No.	Golongan Senyawa	Warna/Endapan yang Terbentuk	Hasil
1	Flavonoid	Kuning	+
2	Steroid	Coklat tua	-
3	Triterpenoid	Cincin kecoklatan	+
4	Saponin	Keruh busa	++
5	Tanin	Kuning	-
6	Fenol	Coklat tua	+
7	Alkaloid		
	a. Mayer	Entapan kuning	+
	b. Dragondroff	Endapan jingga	+

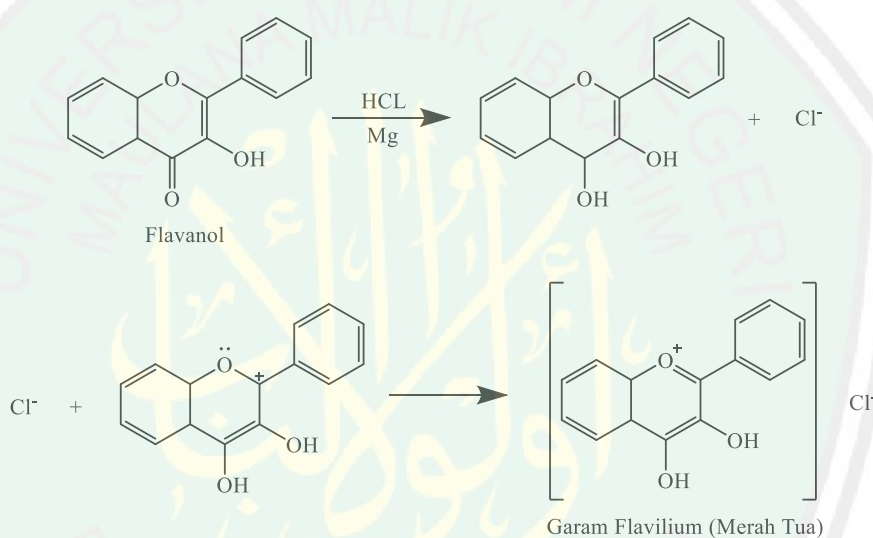
Keterangan: Tanda (++) = terkandung senyawa lebih banyak
Tanda (+) = terkandung senyawa
Tanda (-) = tidak terkandung senyawa

Hasil fitokimia menunjukkan bahwa pelarut etanol mampu mengeskrak senyawa dari kisaran polar hingga non polar, walaupun senyawa non polar hanya sedikit dan lebih banyak menarik senyawa polar. Menurut Puspitasari *et al.* (2010) bahwa pelarut etanol 95 % merupakan pelarut universal dengan indeks polaritas 5,2 sehingga berbagai senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, serta steroid dan terpenoid yang terkandung dapat tertarik ke dalam pelarut. Senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat dideskripsikan sebagai berikut:

4.5.1 Flavonoid

Uji golongan senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol cacing laor. Uji kualitatif flavonoid dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel kemudian dilarutkan dengan metanol 50 % panas kemudian ditambahkan dengan logam Mg dan HCl pekat. Penambahan metanol 50 % panas untuk melarutkan ekstrak, penambahan serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil Flavonoid berikatan dengan Mg dan penambahan HCl pekat pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks garam Flavilium yang berwarna merah, kuning atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Marliana, 2006).

Hasil pengujian flavonoid menggunakan uji Wilstater menunjukkan ekstrak etanol cacing laor positif mengandung flavonoid ditandai dengan adanya warna kuning pada sampel. Hal ini disebabkan karena senyawa golongan flavonoid bersifat polar sehingga lebih larut dalam pelarut polar. Kepolaran senyawa tersebut dikarenakan flavonoid merupakan senyawa polihidroksi (memiliki lebih dari satu hidroksil) (Harbone, 1987). Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Reaksi Dugaan Antara Senyawa Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl Pekat (Harbone, 1987)

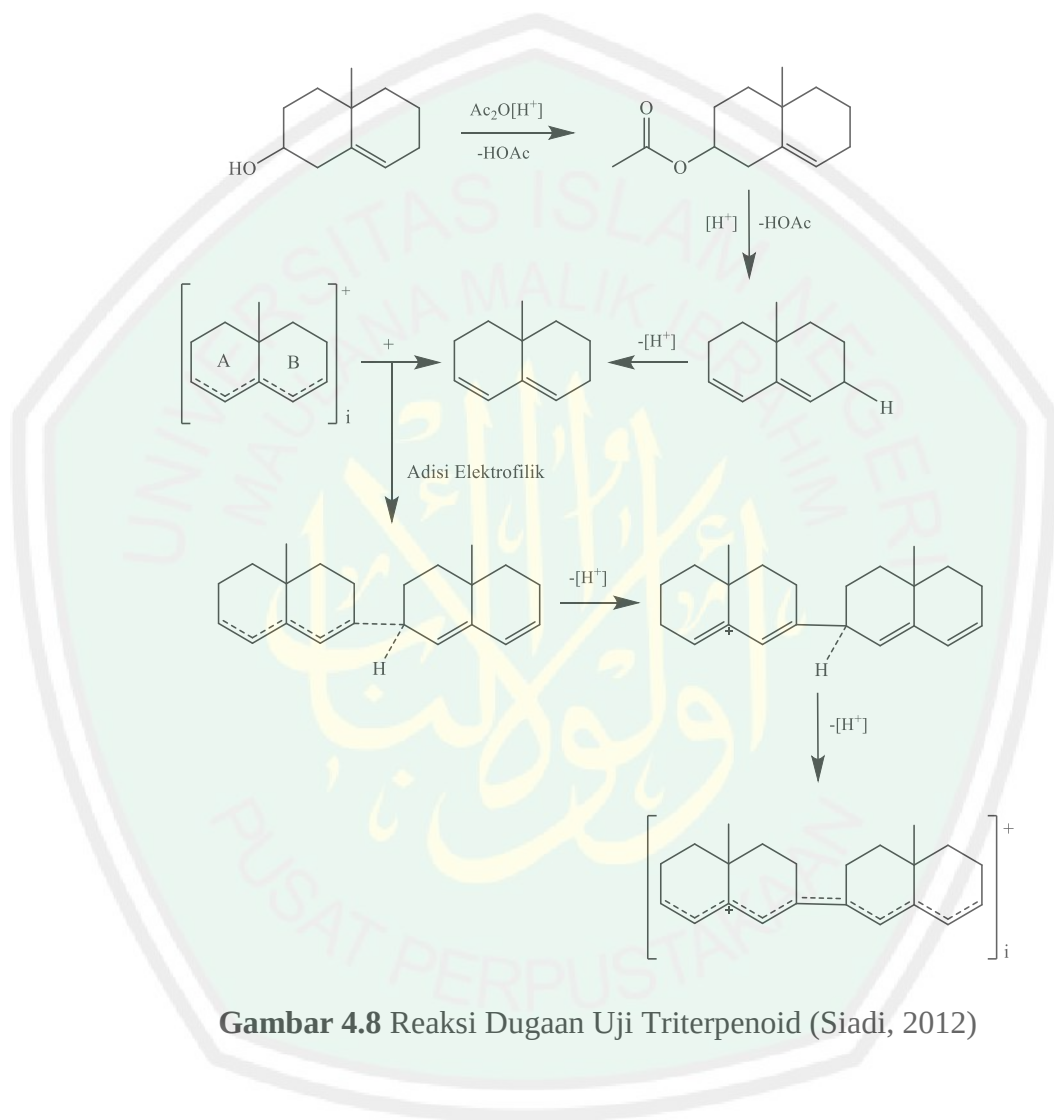
4.5.2 Steroid dan Triterpenoid

Uji golongan steroid dan triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Bouchard, dilakukan dengan cara mengambil sedikit ekstrak etanol cacing laor yang dilarutkan dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann-Bouchard (asam asetat anhidrat-H₂SO₄). Menurut Robinson (1995), ketika senyawa triterpenoid ditetesi pereaksi Lieberman-Burchard melalui dindingnya

akan memberikan reaksi terbentuknya warna cincin kecoklatan, sedangkan steroid akan menghasilkan warna hijau kebiruan. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana dan Saleh, 2011). Berdasarkan hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa ekstrak etanol cacing laor mengandung senyawa triterpenoid. Hal ini terlihat dari perubahan warna yang terjadi setelah penambahan asam sulfat pekat, yaitu warna jingga dan ungu. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan saat ditambah dengan H_2SO_4 . Perubahan warna ini terjadi karena reaksi oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi yang menghasilkan gugus kromofor. Hal ini disebabkan karena adanya reaksi kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Sedangkan pada uji steroid menunjukkan hasil negatif, karena tidak terjadi perubahan warna hijau kebiruan. Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.8.

Uji reagen Lieberman-Burchard merupakan uji reagen yang spesifik pada senyawa triterpenoid. Pereaksi Lieberman-Burchard merupakan campuran antara anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asetat anhidrat. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas (tereliminasi) sehingga membentuk ikatan rangkap terkonjugasi. Selanjutnya akan terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya menyebabkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik yang diikuti pelepasan hidrogen.

Kemudian gugus hidrogen dilepas, yang mengakibatkan terjadinya penggabungan cincin segi enam tak jenuh sehingga memperpanjang ikatan rangkap terkonjugasi, menghasilkan warna coklat pada triterpenoid yang mengabsorpsi spektrum dengan panjang gelombang tertentu (Siadi, 2012).

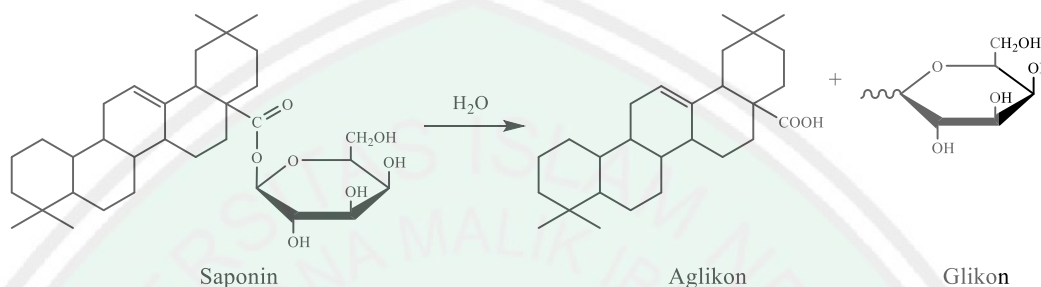


Gambar 4.8 Reaksi Dugaan Uji Triterpenoid (Siadi, 2012)

4.5.3 Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan penambahan aquades pada ekstrak etanol cacing laor. Filtrat kemudian dikocok selama 10 menit, apabila menimbulkan busa maka ditambahkan HCl 1 N. Terbentuknya lapisan busa yang bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1 – 3 cm maka mengindikasikan

adanya saponin. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol cacing laor positif mengandung saponin dengan busa berwarna keruh, busa yang ditimbulkan tersebut terbukti mampu bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 3 cm. Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Reaksi Dugaan Uji Saponin (Marliana, 2005)

Prinsip uji saponin adalah reaksi hidrolisis senyawa saponin menjadi aglikon dan glikonnya yang ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik berupa rantai samping polar yang larut dalam aquades dan gugus hidrofobik berupa aglikon (sapogenin) yang bersifat non polar. Saponin pada saat dikocok dengan air, akan menghasilkan buih karena adanya gugus hidrofil yang berikatan dengan air sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non-polar menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang membentuk busa. Pada umumnya jika hasil positif maka penambahan HCl 1 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil (Robinson, 1995).

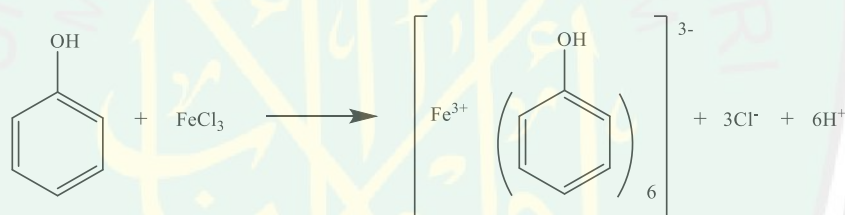
4.5.4 Tanin

Uji fitokimia senyawa golongan tanin dilakukan dengan cara menambah ekstrak dengan reagen FeCl_3 1 %. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kehitaman atau biru tinta. Hal ini terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol, polifenol mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II) (Indarto, 2015). Penambahan FeCl_3 1 % digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol dalam sampel. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harborne, 1987). Terjadinya pembentukan warna hijau ini karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom nonlogam (Effendy, 2007). Terjadinya warna biru kehitaman menunjukkan adanya tanin galat sedang warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin katekol (Praptiwi, *et al.*, 2006). Pada penambahan larutan FeCl_3 diperkirakan larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Pereaksi FeCl_3 dipergunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (Robinson, 1995). Hasil yang diperoleh pada ekstrak etanol cacing laor menunjukkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna pada saat penambahan FeCl_3 1 %. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol cacing laor tidak terdapat kandungan senyawa tanin didalamnya.

4.5.5 Fenolik

Pada uji fenolik, ekstrak etanol cacing laor direaksikan dengan FeCl_3 1 % menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi coklat tua.

Menurut Harborne (1987), deteksi senyawa fenol dengan penambahan penampak bercak FeCl_3 akan menimbulkan warna hijau, merah, coklat, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Larutan FeCl_3 berfungsi sebagai pereaksi, dimana Fe^{3+} akan bereaksi dengan fenol. Hal ini membuktikan adanya warna coklat tua yang menunjukkan adanya kandungan senyawa fenol pada sampel. Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat. Ion Fe^{3+} mengalami hibridisasi orbital $d^2 sp^3$ sehingga ion Fe^{3+} ($4s^0 3d^5$) memiliki 6 orbital kosong yang diisi oleh pendonor pasangan elektron, yaitu atom oksigen pada senyawa fenolik yang memiliki pasangan electron bebas (Marliana & Saleh, 2011). Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.10.



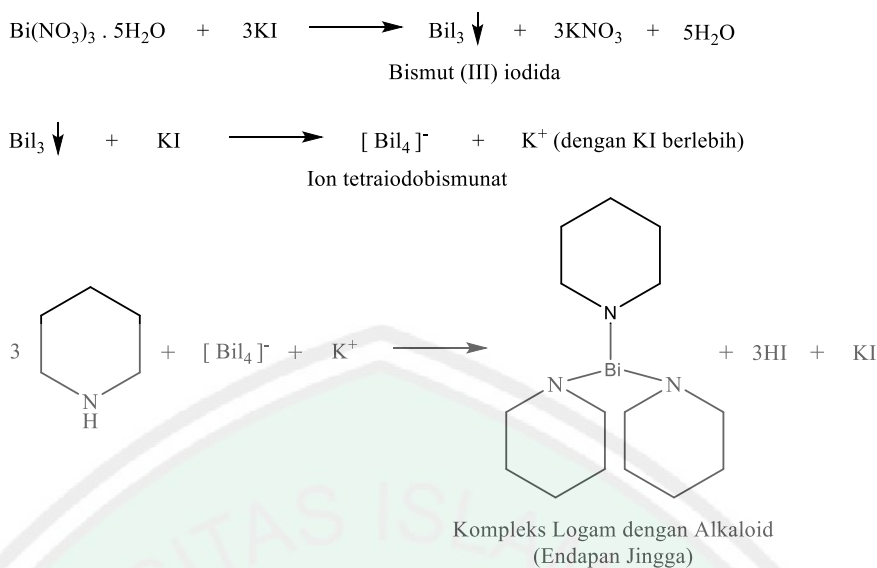
Gambar 4.10 Reaksi Dugaan Uji Fenolik (Nafisah dkk, 2014)

4.5.6 Alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan dengan penambahan HCl sebelum ditambahkan pereaksi karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1996). Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida dan akan membentuk garam yang mudah larut dalam air selain itu tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1987). Uji

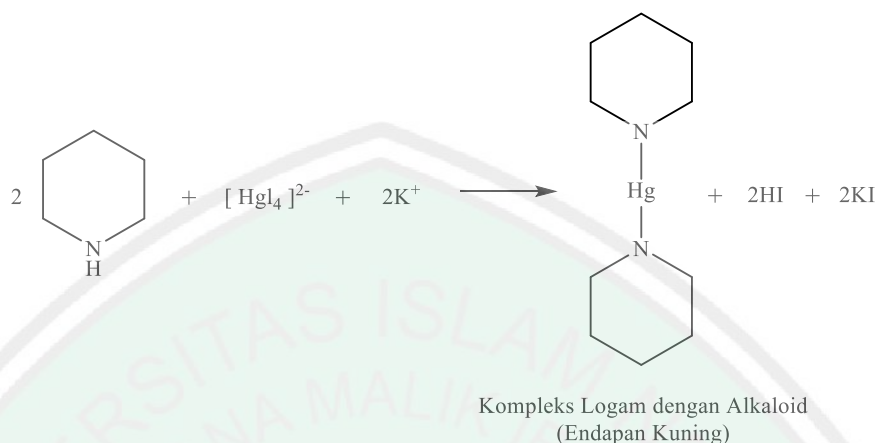
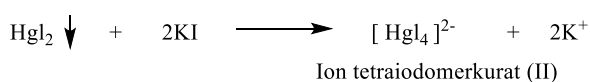
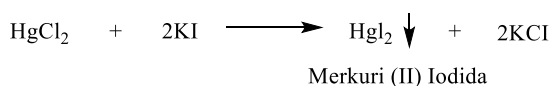
alkaloid dilakukan menggunakan reagen Dragendorff dan reagen Mayer. Hasil positif uji alkaloid akan terlihat dari endapan yang terbentuk. Pereaksi Mayer akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna putih sedangkan dengan pereaksi Dragendorff membentuk endapan berwarna jingga (Robinson, 1995). Prinsip dari reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya peran atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi tersebut sehingga membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam.

Uji Dragendorff, pada proses ini diawali dengan pembuatan reagen Dragendorff, bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan bismut (III) iodida yang kemudian terlarut dalam iodida berlebih membentuk kalium tetra iodobismut (Marliana, dkk., 2005). Reaksi antara senyawa alkaloid dalam sampel dengan pereaksi Dragendorff yang menghasilkan endapan jingga hingga merah kecokelatan. Pada reaksi ini terjadi penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismut menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati, *et al.*, 2015). Hasil yang diperoleh pada ekstrak etanol cacing laor menunjukkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya endapan berwarna jingga pada bagian dasar tabung reaksi. Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Reaksi Dugaan Uji Alkaloid dengan Reagen Dragendorff (Lutfillah, 2008)

Uji Mayer, diawali dengan pembuatan pereaksi Mayer. Larutan mercury (II) klorida ditambah kalium iodida akan membentuk endapan merah mercury (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II) (Svehla, 1985). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Sangi, dkk., 2008). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana, dkk., 2005). Hasil yang diperoleh pada ekstrak etanol cacing laor menunjukkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan pada bagian dasar tabung reaksi. Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.12.

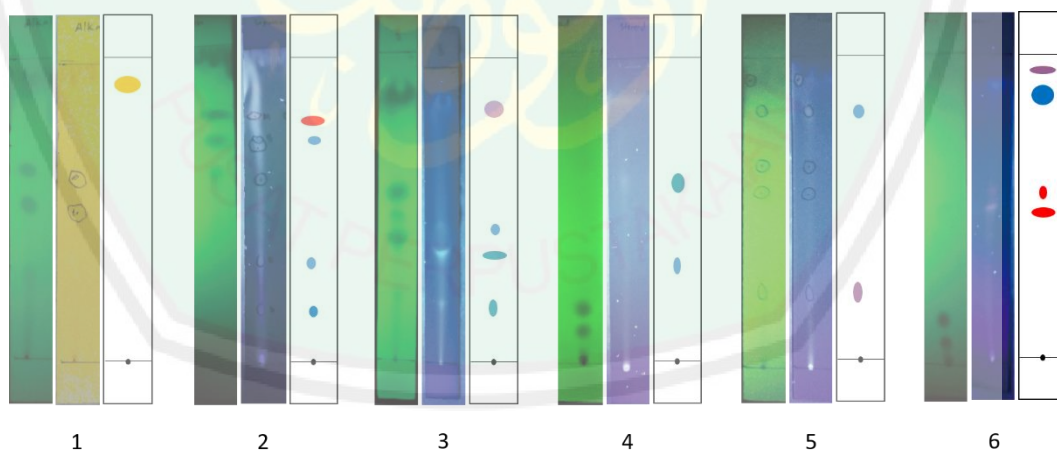


Gambar 4.12 Reaksi Dugaan Uji Alkaloid dengan Reagen Mayer (Lutfillah, 2008)

4.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT

Ekstrak etanol cacing laor yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fase diam dalam KLT adalah lapisan tipis silika gel dan fase geraknya adalah pelarut (eluen). Fase diam pada plat yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1 cm x 10 cm G60 F₂₅₄ (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam-amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika G60 F₂₅₄ diaktifasi pada suhu 105 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007).

Proses identifikasi dengan menggunakan KLT dapat terjadi karena adanya pemisahan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan eluen yang digunakan. Pengujian dilakukan dengan kombinasi eluen diantaranya adalah etil asetat : metanol, n-heksan : etil asetat, n-butanol : NH_4OH , Kloroform : metanol : air, toluena : etil asetat : Asam format dan kloroform : metanol. Pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 254 dan 336 nm. Pada UV 254 nm akan lempeng berflouresensi (memancarkan sinar) sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Hal tersebut terjadi karena adanya interaksi karena sinar UV dengan indikator flouresensi yang terdapat pada sampel. Sedangkan pada UV 366 nm noda yang akan berflouresensi dan lempeng tampak berwarna sesuana senyawa yang terkandung. Hal tersebut terjadi karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat pada ausokrom yang ada pada noda tersebut. Hasil uji KLT dapat dilihat pada Gambar 4.13 dan Tabel 4.5.



Gambar 4.13 Profil KLT Ekstrak Etanol Cacing Laor (1) Alkaloid, (2) Saponin, (3) Triterpenoid, (4) Steroid, (5) Flavonoid, dan (6) Fenolik

Tabel 4.5 Data Hasil KLT Analitik Ekstrak Etanol Cacing Laor

Golongan Senyawa	Fasa Gerak	Noda	Nilai Rf	Warna Noda	Dugaan Senyawa
Alkaloid	Kloro : Meta (4 : 1)	1	0,91	Jingga	Alkaloid
Saponin	Kloro : Meta : Air (13 : 7 : 2)	4	0,16	Biru	Flavonoid
			0,31	Biru tua	Flavonoid
			0,69	Biru	Flavonoid
			0,77	Merah	Triterpenoid
Triterpenoid	n-Butanol : NH ₄ OH (4 : 1)	4	0,20	Biru kehijauan	Flavonoid
			0,37	Biru kehijauan	Flavonoid
			0,50	Biru kehijauan	Flavonoid
			0,89	Ungu muda	Triterpenoid
Steroid	n-Heksan : EA (1 : 1)	2	0,40	Biru	Flavonoid
			0,62	Biru kehijauan	Flavonoid
Flavonoid	EA : Meta (4,5 : 0,5)	2	0,83 0,95	Ungu kegelapan Biru	Saponin Flavonoid
Fenolik	Toluena : EA : Asam Format (3 : 3 : 0,2)	4	0,52	Merah	Triterpenoid
			0,57	Merah	Triterpenoid
			0,90	Biru tua	Flavonoid
			0,96	Ungu kegelapan	Saponin

Keterangan : EA (Etil Asetat), Meta (Metanol), dan Kloro (Kloroform).

Berdasarkan hasil KLT pada Tabel 4.9 menunjukkan ekstrak etanol cacing laor mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, dan alkaloid. Uji KLT dengan eluen etil asetat : metanol (4,5 : 0,5) menghasilkan dua spot noda pada panjang gelombang 366 nm yaitu biru dan ungu dengan nilai Rf 0,83; 0,95, warna ungu menunjukkan saponin dan biru menunjukkan senyawa flavonoid. Pada eluen n-heksan : etil asetat (1 : 1) diperoleh dua spot pada panjang gelombang 366 nm yaitu dengan nilai Rf 0,40 dan 0,62. Diduga pada dua spot tersebut menunjukkan senyawa flavonoid karena adanya noda berwarna biru dan biru kehijauan.

Pada eluen n-butanol : NH_4OH (4 : 1) pada panjang gelombang 366 nm menghasilkan empat spot noda dengan nilai R_f 0,20; 0,37; 0,50 dan 0,89 dengan warna biru kehijauan menunjukkan senyawa flavonoid berturut-turut dan ungu muda merupakan triterpenoid. Pada pengujian dengan fase gerak kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) menghasilkan empat spot nilai R_f 0,16; 0,31; 0,69 dan 0,77 dengan noda warna biru dan biru tua yang menunjukkan senyawa flavonoid dan warna merah menunjukkan triterpenoid.

Sedangkan dengan menggunakan eluen fenolik dengan menggunakan fase gerak toluene : etil asetat : asam format (3 : 3 : 0,2) menghasilkan 4 spot noda yaitu warna merah (triterpenoid), merah (triterpenoid), biru tua (flavonoid) dan ungu (saponin) dengan nilai R_f masing-masing 0,52; 0,57; 0,90 dan 0,96 pada panjang gelombang 366 nm. Pada eluen kloroform : methanol (4 : 1) menghasilkan satu spot noda jingga yang merupakan senyawa alkaloid dengan nilai R_f 0,91 pada panjang gelombang 366 nm setelah disemprot dengan pereaksi Dragendroff.

Nilai R_f (*retardation factor*) merupakan jarak yang ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh eluen. Penghitungan nilai R_f berdasarkan noda yang muncul pada plat KLT. Senyawa pada noda dengan nilai R_f rendah memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi sedangkan senyawa yang memiliki nilai R_f tinggi memiliki kepolaran yang rendah. Munculnya beberapa noda setelah proses elusi disebabkan karena golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak kasar memiliki banyak jenis senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda (Gandjar dan Rohman, 2010).

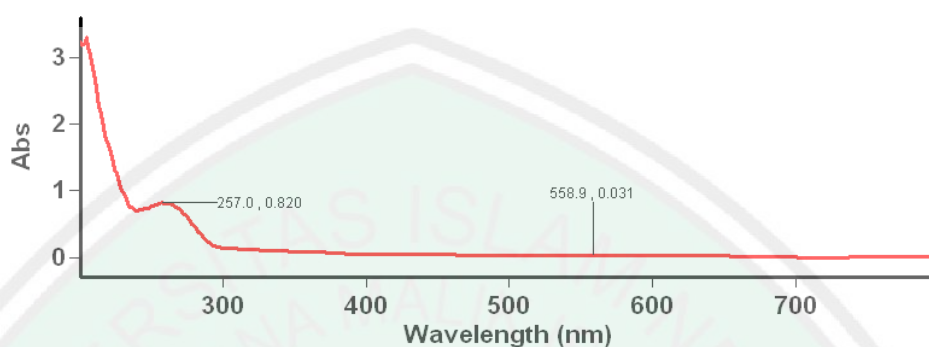
Profil KLT yang diperoleh dari cacing laor sesuai dengan penelitian Nugrahaningtyas dkk. (2005) yang mengidentifikasi senyawa flavonoid dari *Curcuma aeruginosa* Roxb dengan Rf 0,8 yang mendekati dengan penelitian yaitu 0,9. Menurut penelitian Firawati dan Iqbal (2018) senyawa saponin dari daun bungkus *Smilax rotundifolia* memiliki nilai Rf 0,79 yang mendekati dengan nilai Rf profil KLT yaitu 0,8. Pada senyawa alkaloid diperoleh nilai Rf 0,91 yang sesuai dengan penelitian Rahmawati (2015) yang melakukan pemisahan senyawa alkaloid dari *Alstonia scholaris* L. dengan nilai Rf 0,9.

4.7 Identifikasi Senyawa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu analisis berdasarkan atas pengukuran serapan suatu larutan yang dilalui radiasi monokromatis. Penyerapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet bergantung pada struktur dari molekul. Spektrum ultraviolet dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik (Sastrohamidjojo, 1996). Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode identifikasi struktur dari suatu senyawa. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan secara deskriptif senyawa metabolit sekunder yang didapat dari hasil pemisahan senyawa dengan KLT.

Hasil pengujian menunjukkan ekstrak kasar etanol cacing laor mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, fenol dan alkaloid. Kemudian tahap selanjutnya dilakukan identifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penyerapan sinar tampak berupa radiasi elektromagnetik oleh suatu molekul dalam spektrofotometer UV-Vis akan

menghasilkan transisi diantara tingkat energi elektronik molekul tersebut. Hasil spektra UV-Vis larutan ekstrak etanol cacing laor ditunjukkan pada Gambar 4.14 dan Tabel 4.6.



Gambar 4.14 Hasil Spektra UV-Vis Larutan Ekstrak Etanol Cacing Laor

Tabel 4.6 Hasil Analisis Kualitatif Ekstrak Etanol Cacing Laor

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
558,9	0,031
257,0	0,820

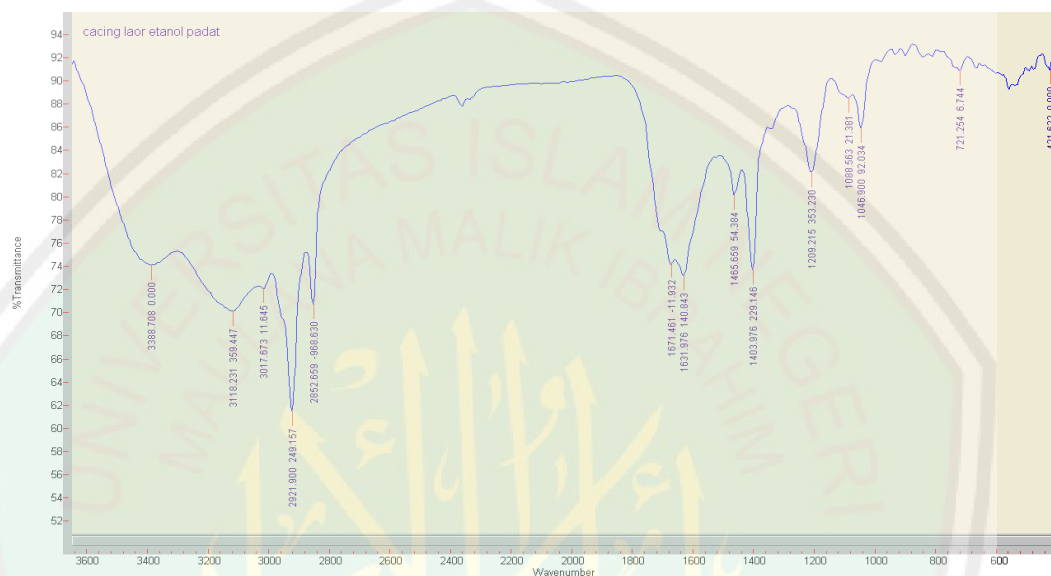
Berdasarkan hasil pengukuran spektrum UV-Vis terdapat serapan maksimum pada panjang gelombang 558 nm (pita I) dan 257 nm (pita II). Puncak serapan 257 nm merupakan puncak khas dari senyawa flavonoid. Serapan pita II menunjukkan serapan benzil yang berada pada rentang 230 – 270 nm (Andersen, 2006). Serapan maksimum yang terjadi pada panjang gelombang yang ditunjukkan oleh pita II disebabkan oleh adanya serapan kuat daerah UV diakibatkan adanya kromofor C=O dan C=C dari gugus aromatik yang terkonjugasi (Harbone, 1987), sehingga kromofor (zat pembawa warna) tersebut menyebabkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$. Transisi itu menyerap cahaya pada

panjang gelombang 200 – 400 nm (Creswell, dkk., 2005). Berdasarkan kaidah seleksi, pita II berada pada tansisi elektron yang diperbolehkan (*allowed*) ($\epsilon = 3,14 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Pola spektrum dihasilkan dalam penelitian ini mempunyai kemiripan dengan penelitian Markham (1988), dimana dari hasil penelitiannya juga menghasilkan spektrum UV-Vis dengan panjang gelombang 257 nm. Berdasarkan hasil tersebut dikatakan bahwa senyawa pada rentang 250 – 280 nm merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus hidroksil (3 OH bebas). Gugus hidroksil menunjukkan puncak pada bilangan gelombang 3118,231 cm^{-1} pada spektrum IR. Sedangkan serapan maksimum yang terjadi pada panjang gelombang yang ditunjukkan oleh pita I berada pada transisi elektron yang tidak diperbolehkan (*forbidden*) ($\epsilon = 1,29 \times 10^{+2} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Berdasarkan kaidah seleksi, suatu transisi elektronik termasuk transisi diperbolehkan bila nilai ϵ sebesar 10^3 sampai 10^6 dan transisi terlarang bila nilai ϵ sebesar 10^{-3} sampai 10^3 (Suhartati, 2017).

4.8 Identifikasi Gugus Fungsi menggunakan FTIR

Ekstrak etanol cacing laor yang mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, fenol dan alkaloid pada KLTA kemudian dilanjutkan pada tahap identifikasi dengan instrumen FTIR. Spektroskopi inframerah (IR) digunakan untuk mengetahui jenis gugus fungsi dalam suatu sampel yang diisolasi. Tampilan spektrum menunjukkan puncak-puncak yang menunjukkan gugus-gugus tertentu dengan grafik perbandingan serapan bilangan gelombang (λ) terhadap transmittan (% T). Terjadinya interaksi antara energi dengan molekul dalam FTIR menyebabkan terjadinya transisi akibat adanya vibrasi molekul,

sehingga setiap gugus fungsi mempunyai tipe ikatan yang berbeda dan mempunyai serapan IR yang khas. Identifikasi dengan menggunakan FTIR ini dapat memperkuat dugaan senyawa yang terkandung dalam sampel cacing laor. Hasil spektrum FTIR ditunjukkan pada Gambar 4.15 dan Tabel 4.7.



Gambar 4.15 Hasil Spektrum FTIR Ekstrak Etanol Cacing Laor

Gambar 4.15 menunjukkan spektrum FTIR berupa data transmitansi dari bilangan gelombang $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Nilai transmitansi yang relatif tinggi menunjukkan bahwa signal dari sampel sebagian besar ditransmisikan, sedangkan nilai transmitansi yang relatif rendah menunjukkan bahwa signal dari sampel sebagian besar diabsorpsi. Hasil analisis gugus fungsi spektrum dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Interpretasi Spektra FTIR Ekstrak Etanol Cacing Laor

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Range Pustaka (cm ⁻¹) (Socrates, 1994)	Intensitas (Socrates, 1994)	Jenis Vibrasi
1	3388,708	3450 – 3250	w – m	NH primer stretch sym
2	3118,231	3250 – 3000	v	OH stretch
3	3017,637	3100 – 3000	m	C-H aromatic stretch
4	2921,900	2930 – 2920	m – s	-CH ₃ stretch sym
5	2852,659	2870 – 2840	m	-CH ₂ stretch symacyclic
6	1671,461	1680 – 1600	m	C=C stretch
7	1631,976	1680 – 1600	m	C=C stretch
8	1465,659	1480 – 1440	m	-CH ₂ bending scissor
9	1403,976	1440 – 1390	m	N-CH ₃ sym
10	1209,215	1225 – 1200	s	C-O stretch asym
11	1088,563	1140 – 820	v	C-O stretch sym
12	1046,900	1085 – 1030	m	C-O alkohol primer
13	721,254	1260 – 700	w	C-C stretch
14	421,622	600 – 420	m	C-H out of plane ring bending

Keterangan: s = *strong*, m = *medium*, w = *weak*, v = *variable*

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak kasar cacing laor yang memperlihatkan adanya serapan-serapan khas untuk beberapa gugus fungsi. Berdasarkan data interpretasi spektrogram FTIR meunjukkan puncak-puncak vibrasi dengan serapan pada panjang gelombang 3388,708 cm⁻¹ yang merupakan serapan dari vibrasi ulur (*stretching*) dari gugus N-H. Adanya serapan pada panjang gelombang 3118,231 cm⁻¹ merupakan serapan vibrasi ikatan O-H. Vibrasi ikatan ini diduga merupakan vibrasi ulur (*stretching*) gugus alkohol yang didukung dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 1046,900 cm⁻¹ dari vibrasi ulur (*stretching*) C-O alkohol primer. Adanya gugus C-H aromatik pada bilangan gelombang 3017,637 cm⁻¹

merupakan serapan ulur (*stretching*) dan $2921,900\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur (*stretching*) simetri dari CH_3 (metil). Serapan pada $2852,659\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan ulur (*stretching*) CH_2 asiklik simetri, serta terdapat serapan tekuk (*bending*) CH_2 (*scissoring*) pada panjang gelombang $1465,659\text{ cm}^{-1}$. Adanya vibrasi ulur (*stretching*) pada bilangan gelombang $1403,976\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan dari gugus N-CH_3 simetri. Pada daerah gelombang $1671,461\text{ cm}^{-1}$ dan $1631,976\text{ cm}^{-1}$ merupakan gugus C=C dengan vibrasi ulur (*stretching*). Selain itu didukung pula munculnya vibrasi ulur (*stretching*) C-O asimetri dan C-O simetri pada bilangan gelombang $1209,215\text{ cm}^{-1}$ dan $1088,563\text{ cm}^{-1}$. Pada bilangan gelombang $421,622\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya vibrasi tekuk (*bending*) gugus C-H dan pada $721,254\text{ cm}^{-1}$ adalah serapan ulur (*stretching*) dari gugus C-C .

4.9 Cacing Laor dan Pemanfaatannya dalam Perspektif Islam

Allah SWT menjadikan manusia sebagai makhluk sempurna yang mempunyai derajat paling tinggi dibandingkan dengan makhluk yang lain. Manusia harus mampu menggunakan akalnya untuk berfikir dan dapat mengambil manfaat dari segala ciptaan Allah SWT dengan baik dan benar. Berdasarkan ayat-ayat Al-Quran, Allah SWT sering kali menyeru manusia untuk memperhatikan dan merenungkan segala ciptaan-Nya yang amat menakjubkan. Agar senantiasa manusia selalu berfikir dan menjadi hamba Allah yang tunduk dan patuh dihadapan Allah SWT. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Qs. ali-'Imran ayat 190 – 191 yaitu:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ
 رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”* (QS. al-‘Imran: 190-191).

Firman Allah tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah memberi pernyataan bahwa seluruh ciptaan-Nya yang ada dilangit maupun di bumi terdapat suatu tanda-tanda kebesaran-Nya. Namun Allah SWT membatasi tanda-tanda kebesaran-Nya yang hanya bisa diketahui bagi orang-orang yang mengkaji dan memikirkannya (*ulul albab*). Quraish Shihab (2004) menjelaskan bahwa *ulul albab* adalah orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah dari ciptaan-Nya, hidayah dari-Nya dan menggambarkan keagungan Allah dan mengingat Allah dalam setiap keadaan.

Manurut tafsir Ibnu Kasir lafadz (إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ) “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi*” ini menjelaskan tentang kekuasaan dan kebesaran Allah SWT yang menciptakan alam beserta isinya seperti hewan dan tumbuhan. Tidak ada segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah menjadi sesuatu yang sia-sia, melainkan Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Sedangkan lafadz (لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ) “*terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal*” ini menjelaskan tentang akal manusia yaitu akal-akal yang sempurna lagi memiliki kecerdasan, karena dengan akal manusia dapat

mengetahui segala sesuatu secara langsung dan jelas untuk merenungi tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Ad-Dymasyqy, 2000). Ayat tersebut seperti yang dilansir oleh Lajnah (2015) menyebutkan bahwa manusia sejak dulu sudah tergugah nalurnya untuk tahu lebih banyak keadaan alam semesta dan segala isinya, termasuk bumi. Berkembangnya dunia sains dan teknologi dewasa ini, para peneliti sedikit demi sedikit telah membuka rahasia alam semesta.

Salah satu yang dapat dipikirkan dalam dunia sains adalah melakukan penelitian mengenai apa yang ada di alam. Seperti halnya dalam melakukan pengkajian ilmu melalui penelitian ini yang mana merupakan salah satu upaya untuk mengambil manfaat dari laut. Penelitian ini mengkaji mengenai isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam cacing laor. Cacing laor merupakan salah satu hewan yang berasal dari laut yang Allah ciptakan agar manusia dapat memanfaatkannya salah satunya sebagai sumber makanan dan obat.

Sebagaimana yang telah dijelaskan bahwa setiap segala sesuatu ciptaan Allah SWT tidaklah sia-sia dan pasti akan memberikan manfaat di dalamnya untuk kesejahteraan manusia di muka bumi. Begitu pula dengan hewan-hewan di bumi ini, Allah SWT telah menciptakan berbagai jenis hewan dengan ukuran mulai dari yang makro (besar) hingga yang berukuran mikro (kecil). Cacing laor merupakan hewan laut yang mampu dimanfaatkan di berbagai bidang baik itu di bidang ekonomi, kesehatan dan industri. Salah satu bidang yang mulai berkembang saat ini yaitu di bidang kesehatan digunakan sebagai antibakteri. Antibakteri adalah suatu senyawa aktif yang dapat membunuh atau menghambat bakteri yang dapat menyebabkan penyakit (patogen), dengan adanya penelitian ini

dapat diketahui bahwa salah satu manfaat yang dapat diambil dari hewan khususnya cacing laor adalah sebagai obat untuk suatu penyakit. Manfaat cacing laor sebagai obat juga telah diterangkan melalui Hadist Rasulullah SAW. Ahmad meriwayatkan dari Usamah bin Syuraik (Qardhawi, 1998):

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَ جَهِلَهُ مَنْ جَهِلَهُ ﴿رواه احمد﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah Ta’ala tidak menurunkan penyakit, kecuali Allah juga menurunkan obatnya. Ada orang yang mengetahui ada pula yang tidak mengetahui” (HR. Ahmad).

Sebagai makhluk yang diberi akhlak, manusia diperintahkan Allah SWT untuk berikhtiar mencari jawaban dari suatu perkara karena setiap persoalan pasti disertai dengan solusinya. Begitu juga suatu penyakit, Allah SWT menurunkan penyakit pasti disertai dengan penawarnya juga. Tergantung bagaimana manusia tersebut mau berikhtiar dengan mencari solusi misalnya melalui sebuah riset atau penelitian. Pemanfaatan cacing laor sebagai antibakteri dalam penelitian ini contohnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol cacing laor yang digunakan dalam penelitian ini mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, tanin, fenol dan alkaloid yang dapat bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang diketahui sering menimbulkan penyakit demam tifoid (tifus). Hal ini membuktikan bahwa hewan laut yang diciptakan Allah memiliki kandungan senyawa kimia yang bermanfaat dan berpotensi sebagai obat.

Ayat-ayat dalam Al-Quran dan hadist-hadist Rasulullah SAW pada hakikatnya telah memberikan banyak petunjuk kepada manusia salah satunya dalam hal menguak rahasia alam melalui riset atau penelitian. Penelitian yang

dilakukan sampai saat ini merupakan salah satu bentuk dari penafsiran terhadap ayat-ayat Al-Quran hadist-hadist nabi secara praktis untuk membantu manusia dalam mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi demi kelangsungan hidup di masa depan. Hasil penelitian ini merupakan salah satu bentuk kemajuan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan dengan memanfaatkan sumberdaya alam. Sumber daya alam yang melimpah di Indonesia diharapkan dapat membuka mata manusia untuk selalu memperhatikan, memikirkan dan merenungkan segala ciptaan dan kekuasaan Allah SWT sehingga kita dapat tergolong sebagai orang-orang yang beriman dan bertakwa. Selain itu melalui hasil penelitian ini, manusia akan semakin sadar betapa luasnya ilmu Allah. Hal tersebut menjadikan manusia semakin rendah hati dan tunduk kepada Allah SWT dan selalu mendekatkan diri kepada-Nya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak cacing laor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi* dimana nilai rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh pada ekstrak etanol sebesar 10,16 mm termasuk dalam kategori kuat. Hasil tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan petroleum eter yang memperoleh rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,83 mm dan 5,75 mm termasuk dalam kategori sedang.
2. Senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol cacing laor mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, fenolik dan alkaloid.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemurnian dari ekstrak kasar menggunakan metode kromatografi (KLTP/Kolom) agar bisa mengetahui dengan pasti senyawa murni yang bersifat antibakteri.
2. Perlu dilakukan peningkatan konsentrasi ekstrak kasar etanol cacing laor sehingga mampu membunuh bakteri lebih banyak yang ditandai dengan munculnya zona hambat yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah M. A Merwad and Mahmoud E. F Abdel Haliem. 2015. Isolation And Initial Characterization of A Myovirida Phage For Controlling Zoonotic *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella Enteritidis* from Broilers in EGYPT. *Original Research Article*. 55 (Suppl 20): 5-15.
- Abdullah. 2003. *Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Achmadi, S. S. 1992. *Teknik Kima Organik*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ad-Dymasyqy, Al-Imam. A. F. I. I. K. 2000. *Tafsir Ibnu Kasir Juz 4 Ali Imran 92- An-Nisa 23*. Bandung: Sinar Baru Agensindo.
- Al-Mubarakfuri, SyaikhShafiyyur-Rahman. 1999. *Ar-rahiq al-Makhtum; Bahtsun fi as-Sirah an-Nabawiyyah 'alaShahihaAfdlali as-Shalatiwa as-Salam*, (terj.KathurSuhardi). Jakarta: Pustaka al-Kautsar.
- Al-Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyasar*, Jilid I. Terjemahan Tim Qisthi Press. Jakarta: Qisthi Press.
- Anam, C., Sirojudin dan Firdausi K.S. 2007. *Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin Dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR*. Berkala Fisika ISSN: 1410 – 9662 Vol 10. No.1hal 79-85.
- Andersen, O.M. and Markham, K.R. 2006. *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. Taylor & Francis Group.
- Aninda, G.R. 2016. Aktivitas Ekstrak cacing laut *Siphonosoma austral* sebagai antihiperglikemik pada tikus galus *Sprague Dawley* yang diinduksi streptozotocin. *Skripsi*. Bandung: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Teknologi Bandung.
- Apriyandi, P. A. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Cacing Lau *Nereis* sp., Cacing Tanah *Eisenia Foetida*, dan Cacing Tanah *Lumbricus Rubellus* terhadap *Salmonella typhi*. *Thesis*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Arifin, H. N. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Pantai Sidayu Gresik Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

- Assidqi, K. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro. *Jurnal of Marine and Coastal Sciaence*. 1 (2), 113-124.
- Ayu, K. C. 2004. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri pada 10 Merk The Hijau yang Beredar Di Pasaran Kota Malang. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Program Sarjana Universitas Brawijaya.
- Barnes. 1991. *Invertebrate Zoology*. Sanders College. Publishing, Orlando, Florida. 893p.
- Basset, J R C, Denney, G H Jefferey, J Mendhom. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: EGC.
- Brock dan Madigan. 1991. *Biology of Microorganism Fifth Edition*. Prentice Hall International.
- Brooks, G.F. *et al.*, 2013. *Medical Microbiology* 26th ed., The McGraw-Hill Companies.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbioligy Reviews*, 565, 568,570. Departement of Microbiology. Miami University, Oxford, Ohio.
- Creswell, C.J., Runquist, O. A., Campbell, M. M. 2005. Analisis Spektru Senyawa Organik. Bandung: ITB.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*. 26: 343 – 356.
- D'Aoust, JY. 2000. *Salmonella*. In: Lund BM, Baird-Parker TC, Gould GW (eds.). *The Microbiological Safety and Quality of Food Vol II*. Maryland: Aspen Publisher Inc.
- Dahuri, R., 2003, *Keanekaragaman Hayati Laut*. Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama
- Darmawati, S. 2009. Keanekaragaman Genetik *Salmonella typhi*. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 2 No. 1.

- Davis WW & Stout TR. 2009. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied and Enviromental Microbiology*. vol. 22 (4): 666-670.
- Day, R.A. & Underwood, A.L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi 6*. Jakarta: Erlangga.
- Dean, J. 2009. *Extraction Techniques In Analytical Science*. London: John Wiley And Sons LTD.
- Dewick, P.M. 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. Wiley.
- Dian, dkk. 2015. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Anti Bakteri. *Skripsi*. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Jendral Sudirman Puwokerto.
- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Yogyakarta: Djambatan.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid 1*. Malang: Bayu Media Publishing.
- Eisenstein TK, MacFarlane AS, Schwacha MG. In vivo blokage of nitric oxide with aminoquanidine inhibits immunosuppression induced by an attenuated strain *Salmonella typhimurium*, potentiates *Salmonella* infection, and inhibits macrophage and polymorphonuclear leukocyte influx into the spleen. *Infect Immun* 1999;67:891-8.
- Elayaraja, S., Murugesan P.S., Vijayalakshmi., and Balasubramanian T. 2010. Antibacterial and antifungal activities of polychaete *Perinereis cultrifera*. *Indian Journal of Marine Sciences*. Vol. 39 (2). Hal: 257-261.
- Erviana, A. E. dkk. 2019. Analisis Randemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Cacing Laut *Eunice siciliensis*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 10 (1), 2019. 1 – 7.
- Erviani, A.E and Arif, A.R. 2017. Rendemen Analysis and Phytochemical Screening of *Perinereis aibuhitensis* Exstracts. *International Journal of Current Research and Academic Review*. 5(11). 25-29.

Fardiaz. 2004. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.

Fauchald, K. 1977. *The Polychaete Worms: Definition and keys to the orders, families and genera*. University of Southern California, Los Angeles: Allan Hancock Foundation.

Febriyansari, A.N. 2007. Penerapan Model Gompertz pada Pertumbuhan Bakteri *L. acidophilus* dan *B. longum* di Media Adonan Es Krim (*Ice Cream Mix* atau ICM) Jenis Standar. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.

Fielman, K.T., Woodin, S.A., Wall W.D and Lincoln, D.E. 1999. Widespread occurrence of Natural Halogenated Organic Among Temperate Marine In Fauna *Marine Ecology-Progress Series* 181:1-12.

Firawati, M., dan Iqbal, P. 2018. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*) Menggunakan Metode Spektrofotometer Ultraviolet. *Jurnal Farmasi*. Universitas Indonesia Timur.

Fitria, A. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi terhadap Produksi Ekspolisakarida dari Tetes Tebu Oleh *Lactobacillus plantarum* dan Identifikasi Senyawa Gula Penyusunnya. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Gandjar, I.G., and A. Rohman. 2010. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Gunawan, D. 2009. *Ramuan tradisional untuk keharmonisan suami istri 2*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Hamdani. 2013. Daya Hambat Air Rebusan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Koloni Bakteri Pada Sikat Gigi. *Skripsi*. Makassar (Id): Universitas Hasanuddin Fakultas Kedokteran Gigi Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat.

Handriani, K. 2009. *Mikrobiologi Edisi 2*. Jakarta: Gramedia

Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)*. Bandung: Penerbit ITB.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita., dan Radji, M. 2008. *Kepekaan terhadap Antibiotik Edisi 3*. Jakarta: Buku Ajar Analisis Hayati.
- Harper MK, Bugni TS, Copp BR, James RD, Lindsay BS, Richardson AD, Schnabel PC, Tansdemir D, Van Wagoner RM, Verbitski SM, & Ireland CM. 2001. *Introduction to the Chemical Ecological of Marine Natural Products*. In: *Marine Chemical Ecology*. (James B. McClintock & Bill & Baker Eds.) CRC Press USA.
- Hartanti. 2010. Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik Termofilik dari kawah Air Panas Gunung Pancar. *Skripsi*. Departemen Biokimia ITB, Bogor.
- Hayati, E. K. 2007. *Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, hal 35-41.
- Haryati, N.A., C.S. Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium Walp*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Kimia Mulawarman*. 13(1): 35-39.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.
- Heinrich, M., Barnes J., Gibbons, S and Williamson E. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams, 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9thEd. New York: Lippincott Williams & Wilkins.
- Huda N. 2001. Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis. GBC 911A Menggunakan Pewarna Tartrazine CL 19140. *Jurnal Sigma Epsilon*. Vol. 1 No. 20-21 ISSN 0853-9013. Bidang Evaluasi dan Pengembangan Keselamatan Instalasi, P2TKN-BATAN.
- Ignatius, B. 2001. Spawning and larval rearing technique for tropical clownfish *Amphiprion sebae* under captive condition. *Journal aquaculture Tropical*, 16(3): 241-249.
- Imamah, N., A. Ghanaïm F., Tri Kustono A. 2015. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella*

Sp. Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Dan Identifikasinya Menggunakan Spektrofotometer Ftir. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

Indarto. 2015. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik dari Kulit Kayu Batang Tumbuhan *Artocarpus dadah* Miq. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika*. Vol 4. No 1.

Jawetz., Ernest, L., Joseph., Melnick., and Edward, A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran edisi 20*. Jakarta: EGC.

Jawetz., Melnick and Adelberg. 2005. *Medical microbiology*. 23th Edition. USA: Mc Graw Hill Company.

Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. 2005. *Modern Food Microbiology*. 7th ed. USA: Springer Science and Business Media Inc.

Jekti D. S. D., Purwoko, A.A. and Muttaqin, Z. 2008. Nyale Sea Worm As Antibacterial Substances. *Jurnal Ilmu Dasar*, 9 (1): 120-12.

Katzung, B.G. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 3 Edisi 8. Penerjemah dan editor: Bagian Farmakologi FK UNAIR*. Surabaya: Penerbit Salemba Medika.

Kaur, J., and Jain, S.K., 2012. Role of Antigens and Virulence Factors of *Salmonella enterica* serovar Typhi in its Pathogenesis. New York, USA. *J. of Microbiol. Res.*, 167: 199-210.

Kayser, F. H. 2005. *Medical Mircrobiology: Fungi as Human Pathogens*. New York: Thieme Stuggart. pp. 362-4.

Khoiriyah, S., Hanapi, A., & Fasya, A. G. 2014. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Cokelat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Alchemy: Journal of Chemistry*. 3 (2): 133 – 144.

Khopkar, S M. 2003. *Kosep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.

Kristianti, A.N., Aminah N.S., Tanjung M., Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga. P.47-48.

- Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Quran. 2015. *Jasad Renik dalam Perspektif AL-Qur'an dan Sains*. Jakarta: LIPI.
- Latumahina M, Tapotubun AM, Savitri IKE. 2007. *Studi Kandungan Gizi Laor*. Direktur Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional. Laporan Penelitian Fundamental.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavanoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Tulis Ilmiah*. Sumatra Utara: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Liline, S and Corebima A.D. 2017. Identification of Laor Worms (*Polychaeta*) from the Sea Region of Haria Village of Central Maluku, Indonesia. *Human Journals*. Research Article. Vol 7. Issue I.
- Lovell, H.R., Steward C.C., and Phillips T. 1999. Activity of Marine Sediment Bacterial Communities Exposed to 4-Bromophenol, a Polychaete Secondary Metabolite. *Journal Department of Biological Sciences and Belle W. Baruch Institute of Marine Science and Coastal Research, University of South Carolina, Columbia. South Carolina 29208, USA. Vol. 179: 241-246.*
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata Beauv*) serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA UB.
- Maharani, T., Sukandar D dan Hermanto S. 2016. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra Cauliflora* L.) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, 2(1); 55-62.
- Maloy S. 1999. *Salmonella* information. Inggris.
- Maleki, S, *et all*. 2008. Antibacterial activity of the fluid of iranian *Torilis leptophylla* againts some clinical pathogen. *Journal of Biological Science*. 11 (9): 1286-1289.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Marliana, S., Suryanti, Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium*

edule Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas.

Marliana, Soerya Dewi., Venty Suryanti., Suyono. 2006. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3. (1): 26-31.

Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus Ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian*. MIPA,1(1), 23-2.

Marliana, S.D., Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi nHeksana, Etil asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari Siceraria Morliana*). *J. Kimia Mulawarman*. 8(2): 39 – 63.

Martiningsih, N. W. 2013. Skrining Awal Ekstrak Etil Asetat Spons *Leuccetta* sp. Sebagai Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA III*. Jurusan Analisis Kimia FMIPA UPG.

Mastroeni, P. and D. Maskell (Ed). 2005. *Salmonella Infections: Clinical, Immunological and Molecular Aspects*. Cambridge University Press.

Megha N. M and Sabale A. B. 2014. Antimicrobial, Antioxidant and Haemolytic Potential of Brown Macroalga *Sargassum*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(8): 2091 – 2104.

Moehario LM. 2009. The molecular epidemiology of *Salmonella* Typhi across Indonesia reveals bacterial migration. *J Infect Dev Ctries*. 3(8):579-584. doi:10.3855/jidc.548.

Monack D.M., D.M. Bouley and S. Falkow. 2004. *Salmonella typhimurium* Persists within Macrophages in the Mesenteric Lymph Nodes of Chronically Infected Nramp1 Mice and Can Be Reactivated by IFN γ Neutralization. *J. Exp. Med*. Volume 199, Number 2, January 19, 2004. 231–241. The Rockefeller University Press.

Monalisa, D., Handayani, T., & Sukmawati., D. (2011). Uji Daya Antibakteri Ekstrak daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal BIOMA*, 9(2), 13 – 20.

- Motomassa, K. 1998 Search for Biologically Active Substances from Marine Sponges. In: Prosiding Seminar Bioteknologi I (R. R. eds.), *Puslit Oseanologi LIPI*, Jakarta.
- Muhibah, S. R. N. 2013. *Uji Golongan Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah dari Petani Lobuk Madura*. UIN Malang.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 26 (2): 211 – 219.
- Mulja, M., dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental, Cetakan I*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Nafisah, Minhatus., Tukiran., Suyatno., dan Hidayati, Nurul. 2014. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Universitas Negeri Surabaya*. B279-B286.
- Natheer, S.E., C. Sekar., P. Amutharaj., M. Syed Abdullah Rahman and K. Keroz Khan. 2012. Evaluation of Antibacterial Activity of *Morinda citrifolia*, *vitex trifolia* and *Chromolaena odorata*. *African journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 6 (11) . pp. 783 – 788.
- Nendissa D. M. 2012. Analisa Kemampuan Alga Hijau Silpau (*Dictyosphaeria versluysii*) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Ekologi dan Sains*. 1 (1): 47-52.
- Ningtyas, R., 2010. Uji Antioksidan, Antibakteri ekstrak air daun kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith) sebagai pengawet alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Nugrahaningtiyas K.D., Sabirina, M dan Wahyuni, T.D. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Jurnal Kimia FMIPA*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Lamun Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- Nurfitriani, E. 2015. Ekstraksi dan Fraksinasi *Bruguiera hainesii*. *Skripsi*. Universitas Padjajaran: Program Sarjana Ilmu Kelautan.

- Nurhayati, T., Aryanti, D., dan Nurjanah. 2009. Kajian awal potensi ekstrak spons sebagai antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*. 2:43-51.
- Nurhidayat M.A. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Nurhikmah. 2017. Karakterisasi Dan Penapisan Senyawa Bioaktif Cacing Laut (*Siphonosoma australe-australe*) Dari Perairan Sulawesi Tenggara. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Nurwahida., Abdullah A., dan Erviani A.E. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Cacing Laut *Perinereis aibuhitensis* Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Departemen Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Penegtaahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nur'utami, D A. 2011. Metode Analisis Isolasi dan Identifikasi *Salmonella Typhimurium* pada Susu dengan Metode Real-Time PCR (Polymerase Chain Reaction). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian ITB.
- Oesman, F., Murniana, Khairunnas M and Saidi N. (2010). Antifungal Activity of Alkaloid from Bark of *Cerbera odollam*. *Jurnal Natural*. (10). 2.
- Pamungkas, J. 2009. Pengamatan Jenis Laor (*Annelida, PLYCHAETA*) Di Perairan Desa Latujalat Pulaun Ambo, dan Aspek Reproduksi. *Jurnal TRITON*. Vol. No. 2.
- Parija, S. C. 2012. *Textbook of Microbiology and Immunology*. Edisi ke-2. Elsevier, New Delhi. Halaman 41-44.
- Parry, C.M. *et al.*, 2002. Typhoid Fever. *N Engl J Med*, 347(22), pp.1770-82.
- Paul VJ. 1992. *Chemical Defenses of Benthic Marine Invertebrata*. In *Ecological Role of Marine Natural Products* (Paul VJ Ed). Comstock Press, Ithaca N.Y.
- Pelczar, M. J. dan R. D. Reid, 1972. *Microbiology*. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan, 1986, Penterjemah, Ratna Siri Hadioetomo dkk. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

- Pelczar, M. J dan Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Pratama, M. R., 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Pratiwi, A. E. 2015. Isolasi, Seleksi dan Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit dari Daun Tanaman *Garcinia benthami* Pierre TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Program Studi Farmasi, UIN Hidayatullah, Jakarta.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Erlangga.
- Prescott, et al. 2008. *Microbiology 7th edition*. USA: McGraw-Hill Book Company.
- Purwatresna, E. 2012. *Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air Dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim A-Glukosidase*. Institut Pertanian Bogor.
- Purwantiningsih, T.I., Suranindyah, Y.Y., & Widodo. (2014). Aktivitas Senyawa Fenol dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Antibakteri Alami untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan* 38(1): 59-64.
- Purwono dan Hartono R. 2008. *Bertanam Jagung Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Puspitasari, G., S. Murwani, dan Herawati. 2010. Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) terhadap Bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2036.T secara In Vitro.
- Qardhawi, Y. 1998. *al-Qur an Berbicara Tentang Akal dan Ilmu Pengetahuan*, Penerjemah: Abdul Hayyie al-Kattani. Jakarta: Gema Insani.

- Rahmawati, F., 2015. Optimasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulau (*Alstonia scholaris* L. R. Br). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rahmawati, R. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum Piloselloid* (L.) Pesi) dan Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis terhadap Bakteri *Sterptococcus Mutans*. UIN Malang.
- Rahayu, M.R., James, S., dan Made D.S. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Ekstrak Etanol Spons *Callyspongia aerizusa* Terhadap Larva *Artemia Salina* L. *Jurnal Cakra Kimia*. Vol 1. No. 1. 1 – 7.
- Rasidi. 2012. Pembenihan Cacing Laut *Dendronereis pinnaticirris*: Suatu Upaya Awal Penyediaan Benih Cacing Laut Untuk Budidaya. *Media Akuakultur* 7(2)
- Rasidi dan Patria M.P. 2012. Pertumbuhan Dan Sintasan Cacing Laut *Nereis* sp. (*Polychaeta*, *Annelida*) Yang Diberi Jenis Pakan Berbeda. *J. Ris. Akuakultur*, 7(3) Vol. 7: 447-464.
- Rasidi. 2012. Pertumbuhan, Sintasan, dan Kandungan Nutrisi Cacing *Polychaeta Nereis diversicolor* (O.F.Muller, 1776) yang Diberi Jenis Pakan Berbeda dan Kajian Pemanfaatan *Polychaeta* Oleh Masyarakat Sebagai pakan Induk di Pembenihan Udang. *Tesis*. Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Indonesia.
- Rasyidi, R.D.G. 2016. Penentuan Aktivitas Antioksidan Isolat RNV-1 Hasil Isolasi Dari Batang Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*). *Tesis*. Program Pascasarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Bandar Lampung.
- Rijke, E. 2005. Trace Level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application to Plants of the Leguminosae Family. *Vrije Universiteit Amsterdam: Geboren Te Purmerend*.
- Rinawati ND. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November.

- Rita, W.S. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe). *Jurnal Kimia*, Vol 4(1), 20–26.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI*, Hal 191-216, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rosa, A., Laura de la., Parrilla, E.A., and Gustavo A.G.A. 2010. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability*. Iowa: Wiley-Blackwell.
- Rudi, L. 2010. *Penuntun Dasar-Dasar Pemisahan Analitik*. Kendari: Universitas Haluoleo.
- Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala., V.M.A. Making. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara Biologi Fakultas MIPA Unsrat. *Chemistry Program*. 1 (1): 47-53.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: UGM Press.
- Shahidi, F and Naczki M. 1995. *Food Phenolics : Sources, Chemistry, Effects, and Applications*. USA: Technomic Publishing Company, Inc. Pennsylvania.
- Shihab, M. Quraish. 2004. *Tafsir al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian AlQur'an*. Jakarta: Lentera Hati. Vol. 3.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. 35(2): 77–83.
- Sigee DC, Dean A, Levado E, Tobin MJ .2002. Fourier-transform infrared spectroscopy of *Pediastrum duplex*: characterization of a micro-population isolated from a eutrophic lake. *Eur. J. Phycol.* 37: 19-26.
- Simanjuntak, C.H., 1993, “Demam Tifoid, Epidemiologi, Dan Perkembangan Penelitiannya” *Cermin Dunia Kedokteran*, 1 (83).
- Singh, R., Sahu S.K and Thangaraj M. 2014. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Marine Invertebrate (*Polychaete*) and Assessment of Its Efficacy against Human Pathogens. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanoparticles* Vol 2014, Article ID 718240, 7.

- Siregar, T. H. 2010. Efektivitas KMK dan Na_2EDTA dalam Mengabsorpsi Paparan Merkuri pada Ikan Lele (*Clarias batrachus*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. 5 No 2. Universitas Gadjah Mada.
- Siregar, B. 2011. Daya Antibakteri Ekastrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] boerl) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (in Vitro). Universitas Sumatera Utara.
- Socrates. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition*. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Soebagio. 2002. *Kimia Analitik II*. Malang: JICA.
- Stachowicz JJ. 2001. *Chemical ecology of mobile benthic invertebrates: predator and prey, allies and competitor*. Dalam Marine Chemical Ecology James B, Mc Clintock Mc, Baker BJ (Eds). USA: CRC Press.
- Staff FKUI, 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, CV. Lampung: Anugrah Utama Raharja.
- Suharto, M.A., H.J. Edy, dan J.M. Dumanauw. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Jurnal Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado*, 95115. Vol 1. No: 2.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Svehla, G. 1985. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro Edisi kelima Bagian I*. Jakarta: Kalman Media Pusaka.
- Swartana A. 1983. *Cacing Yang Enak Dimakan*. Lonawarta LIPI. Lembaga Oceanografi Nasional. Stasiun Peneliti Laut–Ambon. No.2.
- Syarifah. 2011. Daya Hambat Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Palembang: Biologi IAIN Raden Fatah Palembang.

- Talakua C. 2013. Pengaruh garam dan lama fermentasi terhadap kandungan protein Bakasang Laor. *Skripsi*. Pendidikan Biologi Jurusan MIPA Fakultas KIP Universitas Pattimura Ambon.
- Taslim, M. 2009. Uji Hambatan Seduhan Produk Teh Terhadap Bakteri Penyebab Diare (*E. coli*) Secara in Vitro. Proposal Jurusan Biologi FMIPA Unpatti.
- Truper, H.G. 2005. The type species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 is *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987, with the type strain LT2T, and conservation of the epithet enterica in *Salmonella enterica* over all earlier epithets that may be applied to this species. Opinion 80. Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 519-520.
- Ullrich, R., Nuske, J., Scheibner, K., Spantzel, J. and Hofrichter, M. 2005. Novel haloperoxidase from the agaric basidiomycete *Agrocybe aegerita* oxidizes aryl alcohols and aldehydes. *Appl. Environ. Microbiol.* 70. 4575-4581.
- Usman, H., Ahmad, A., Kasim, S., Bahar, R., dan Johannes, E. 2014. Isolasi, Karakterisasi, Bioaktivitas dan Sintesis Biomolekul Metabolit Sekunder Antimikroba dan Antikanker dari Spons Petrosia alfiani, *Laporan Penelitian Berbasis Kompetisi Internal*. Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Makassar.
- Utami, K.S. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, dan n-Hekasana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* *Skripsi*. UIN Malang.
- Vermerris, W., and Nicholson R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer: The Netherlands.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar, Alih Bahasa: Markham*. Jakarta: PT. Glora Aksara Pratama.
- Widiyatni. 2010. Isolasi, Penentuan Struktur Senyawa Serta Uji Aktivitas Biologi Dari Ekstrak Etanol Tandan Tanaman *Musa paradisiaca*. *Tesis*. Fakultas Mipa Program Magister Ilmu Kimia Kekhususan Kimia Hayati Depok.

Widoyono. 2011. *Penyakit Tropis*. Jakarta: Erlangga

Wiku, A. 2007. *Sistem Kesehatan*. Jakarta: Grafindo Persada

Woodin, S.A., Walla M.D and Lincoln D.E. 1987. Occurrence of brominated compounds in soft-bottom benthic organisms. *Journal Exp Mar Biol Ecol*. 107:209-217.

Yulianti, Ratih Dwi. 2008. Penentuan Seng dalam Kerang Darah (*Schapharcha inaequalvis*) dengan Pengkompleks Alizarin Red S Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA-ITS.

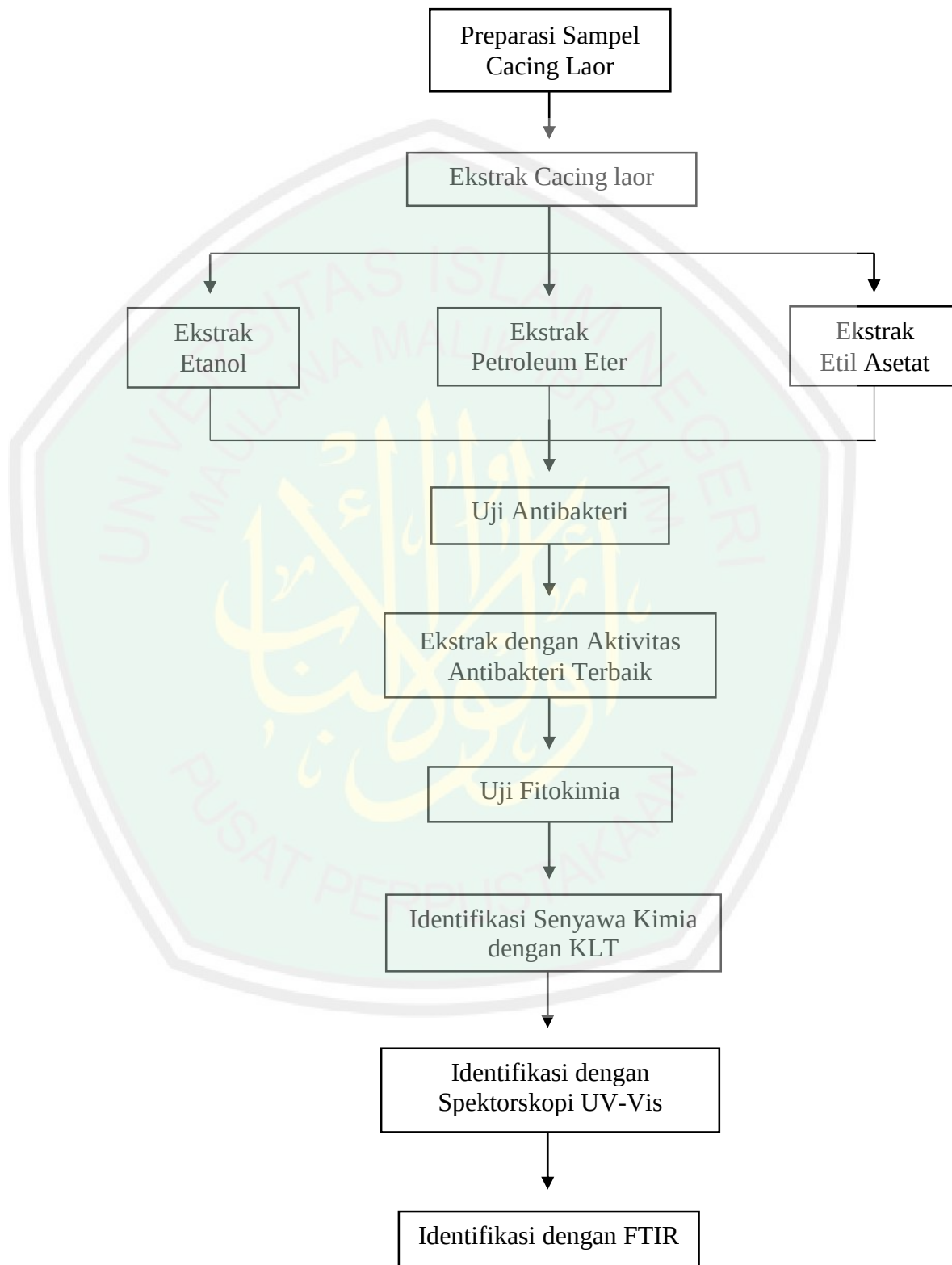
Yusron E. 1985. *Beberapa Catatan Mengenai Cacing Laut Polychaeta*. Oceana No 4 Vol X.

Zhang CX, Zi RD. 2011. Anti-hypoxia activity of a polysaccharide extracted from the *Sipunculus nudus* L. *International Journal of Biological Macromolecules*. 49: 523-526.

Ziprin RL, Hume MH. 2001. *Human salmonellosis: general medical aspects*. In: Hui YH, Pierson MD, Gorham JR (eds.). *Foodborne Disease Handbook Revised and Expanded Vol I: Bacterial Pathogens*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc.

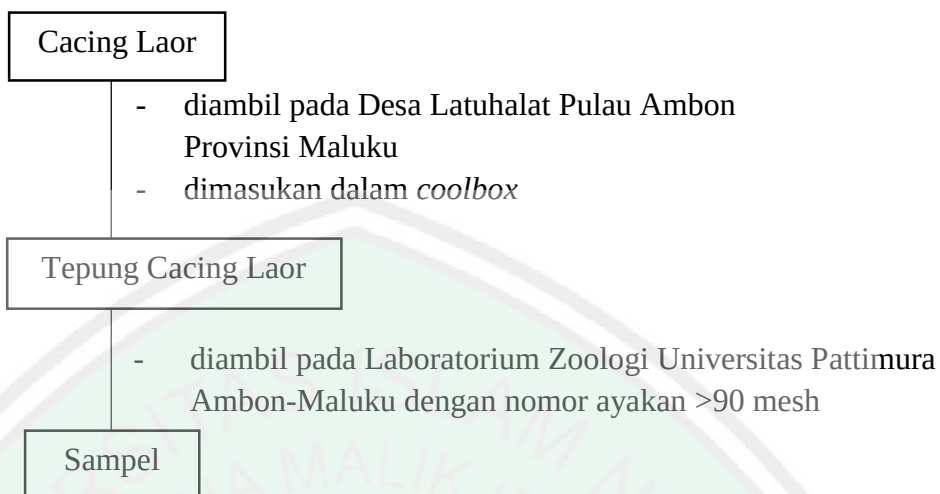
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

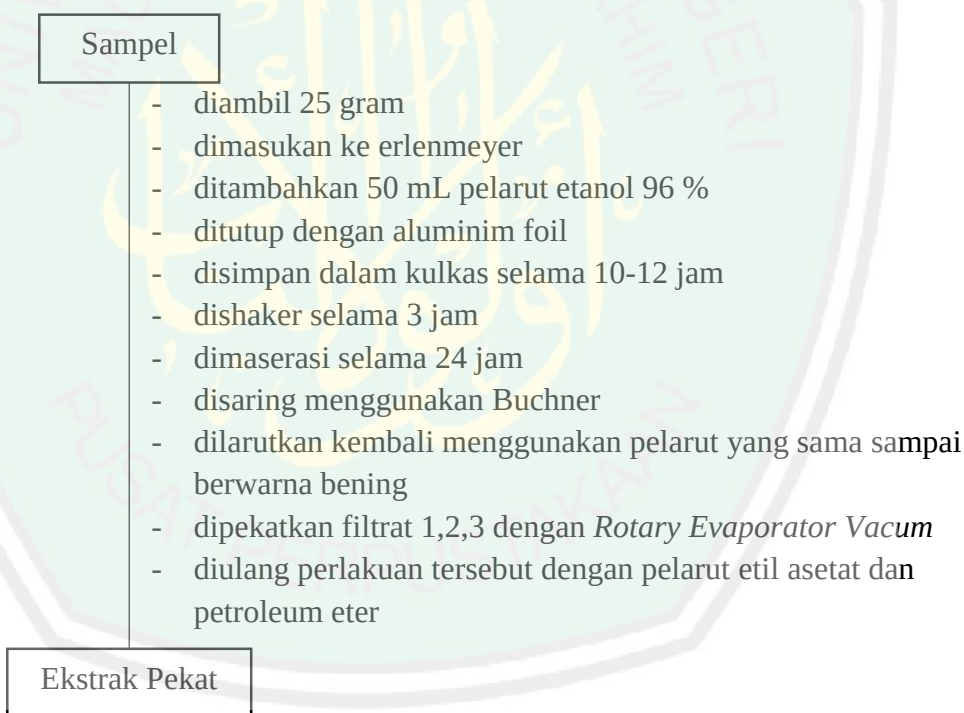


Lampiran 2. Skema Kerja

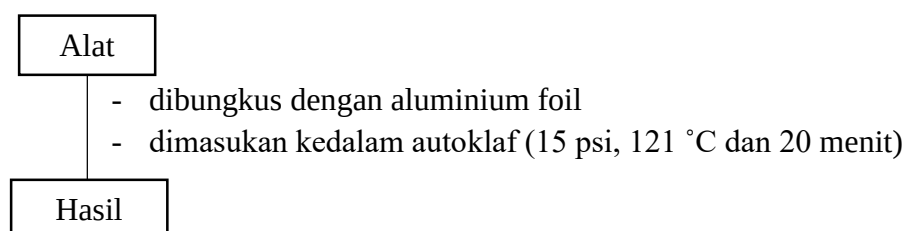
L.2.1 Sampling



L.2.2 Ekstrak Cacing Laor



L.2.3 Sterilisasi Alat



L.2.4 Pembuatan Media

L.2.4.1 Pembuatan Media NA (*Nutrien Agar*)

Nutrien Agar (NA)

- diambil 2,3 gram
- dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam erlenmeyer
- ditutup dengan kapas
- dipanaskan hingga mendidih
- dimasukkan kedalam tabung reaksi secara aseptik
- disterilkan dalam autoklaf
- dibiarkan dengan posisi miring

Hasil

L.2.4.2 Pembuatan Media NB (*Nutrien Broth*)

Nutrien Agar (NA)

- diambil 1,8 gram
- dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam erlenmeyer
- ditutup dengan kapas
- dipanaskan hingga mendidih
- dimasukkan kedalam tabung reaksi secara aseptik
- disterilkan dalam autoklaf

Hasil

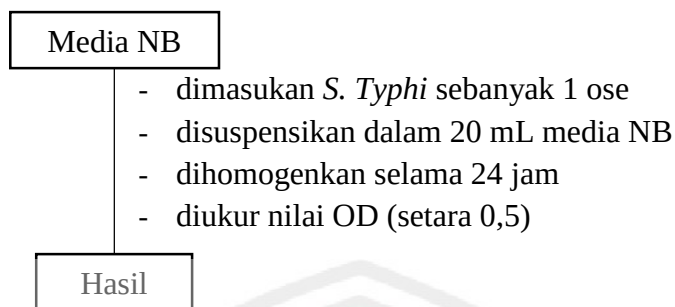
L.2.5 Regenerasi Bakteri *S. Typhi*

Biakan Murni *S. Typhi*

- diambil 1 ose
- digoreskan pada media NA miring secara aseptik
- ditutup dengan kapas
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam

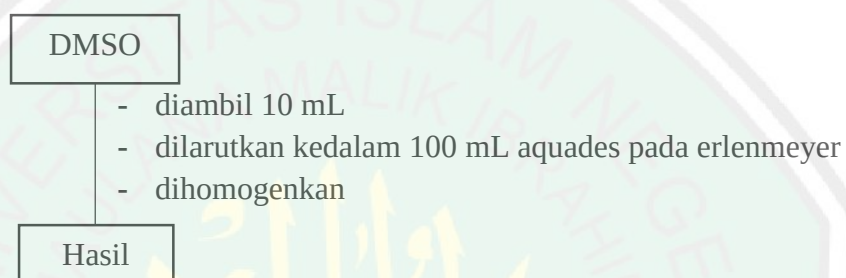
Hasil

L.2.6 Inokulum Bakteri *S. typhi*

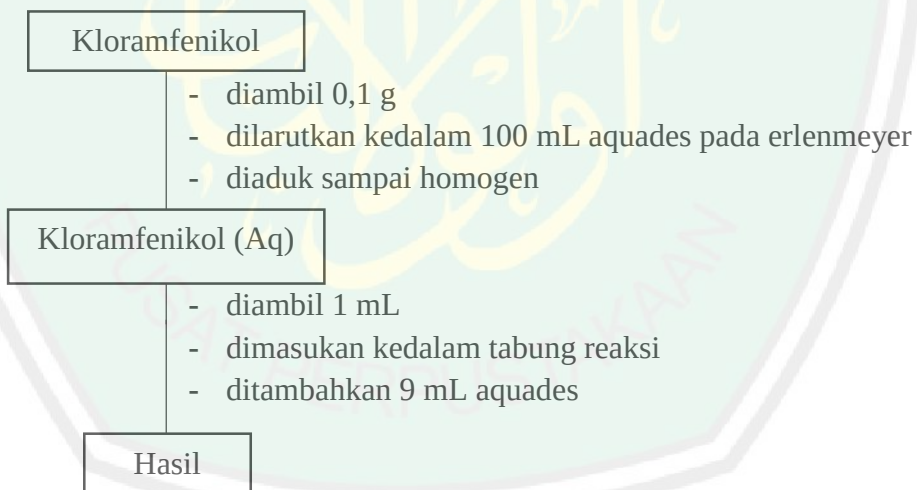


L.2.7 Pembuatan Larutan Kontrol

L.2.7.1 Pembuatan Larutan DMSO



L.2.7.2 Pembuatan Larutan Kloramfenikol



L.2.8 Pembuatan dan Peresapan Kertas Cakram

Kertas Wathman (diameter 7 mm)

- dimasukkan dalam botol vial
- ditutup dengan alumunium foil dan plastic wrap
- dimasukkan plastik tahan panas
- disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 15 menit
- didinginkan

Kertas Cakram

- diresapkan dengan merendam cakram pada kontrol positif, kontrol negatif, dan ekstrak kasar selama 30-60 menit

Hasil

L.2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Nutrien Agar (NA)

- dipanaskan hingga mencair
- didinginkan sampai suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$
- dimasukan kedalam cawan petri
- dicampurkan masing-masing dengan 0,1 mL larutan bakteri *S. Typhi*
- dihomogenkan
- dibiarkan hingga memadat
- ditemplei kertas cakram yang telah direndam pada ekstrak cacing laor yang dihasilkan dan kontrol
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam
- diamati pertumbuhan bakteri dan diukur zona hambat

Hasil

L.2.10 Penentuan Jumlah Sel Bakteri Menggunakan TPC

Bakteri *S. typhi*

- disiapkan 10 buah tabung reaksi berisi NaCl 0,85 % steril dengan volume 9 mL
- diambil 1 ml larutan inokulum dengan mikropipet
- dimasukkan kedalam tabung reaksi pertama
- dihomogenasi dengan *vortex* dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1})
- dipipet 1 mL pada tabung pertama lalu dimasukkan ke dalam tabung kedua
- dihomogenasi dengan *vortex* sehingga diperoleh tingkat kedua (10^{-2})
- dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-10}
- diambil 0,1 mL dimulai dari pengenceran 10^{-5} sampai pengenceran 10^{-10}
- ditanamkan pada media padat NA secara *pour plate*
- digoyang-goyang cawan petri hingga merata
- didiamkan hingga membeku
- diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam

Hasil

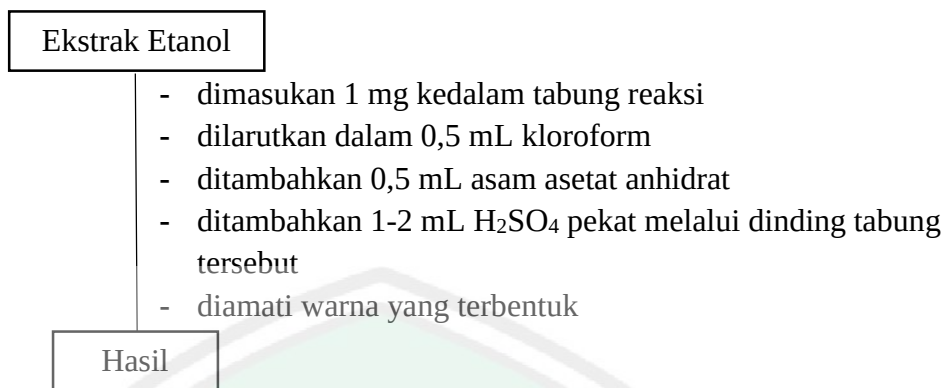
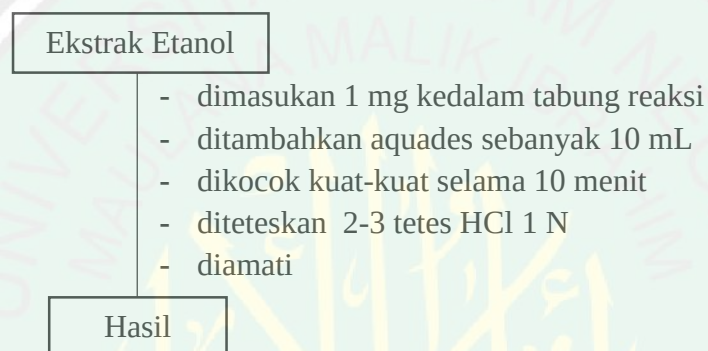
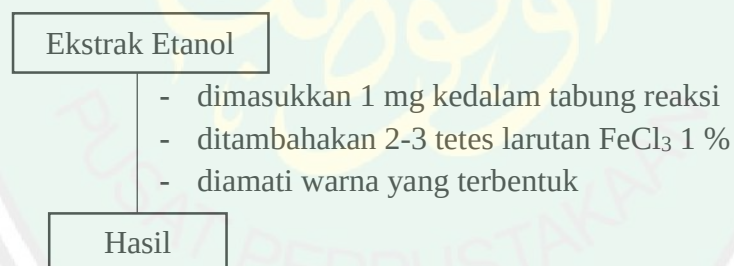
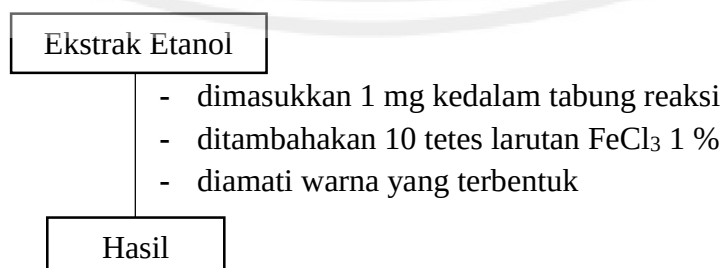
L.2.11 Uji Fitokimia

L.2.11.1 Uji Flavonoid

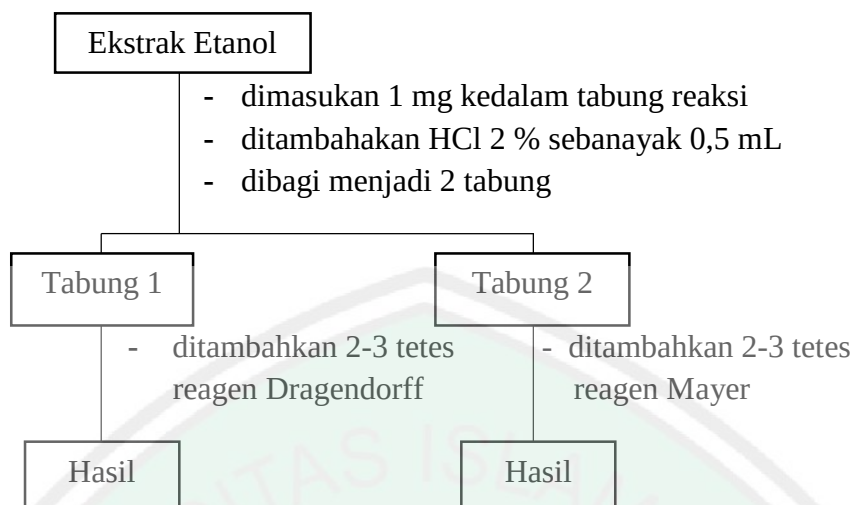
Ekstrak Etanol

- dimasukkan 1 mg kedalam tabung reaksi
- dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %
- ditambahkan serbuk Mg dan 0,5 HCl pekat

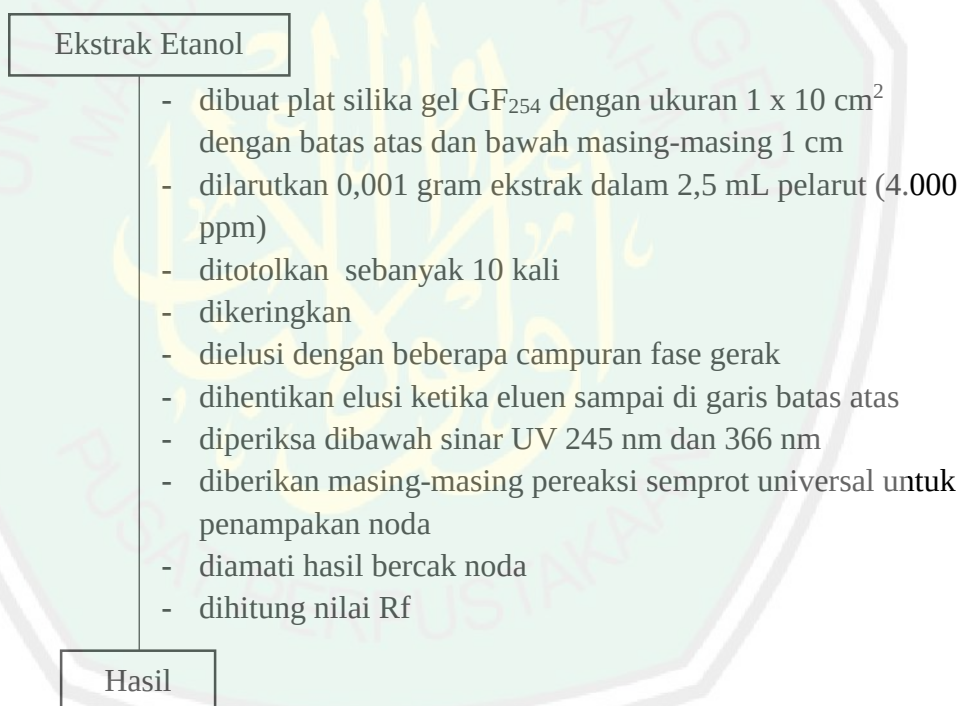
Hasil

L.2.11.2 Uji Steroid dan Triterpenoid**L.2.11.3 Uji Saponin****L.2.11.4 Uji Tanin****L.2.11.5 Uji Fenolik**

L.2.11.6 Uji Alkaloid



L.2.12 Pemisahan senyawa kimia dengan KLT



L.2.13 Identifikasi Senyawa Kimia dengan UV-Vis**Ekstrak Etanol**

- diambil 0,5 mg
- dilarutkan dengan pelarut sebanyak 5 ml
- dimasukkan ke dalam kuvet hingga sepertiganya
- dianalisis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm
- diamati spektra yang terbentuk
- dicatata panjang gelombang dan absorbansinya pada puncak yang terbentuk

Hasil**L.2.14 Identifikasi Gugus Fungsi dengan FTIR****Ekstrak Etanol**

- diambil 1 mg
- ditambahkan KBr (2:98)
- digerus sampai halus
- dibuat pelet dengan diameter 7 mm
- diletakan pada sampel holder
- dianalisis dengan spektroskopi FTIR

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Pembuatan larutan HCl 1 N

Dik: [HCl] dalam botol = 37 %

Berat jenis 1,19 g/mL

BM : 36,5 g/mol

Dit: larutan HCl 1 N?

Penyelesaian: $N = ((10 \times \% \times \text{Berat jenis}) \times \text{valensi}) / \text{BM}$

$$N = ((10 \times 37 \% \times 1,19 \text{ g/mL}) \times 1) / 36,5 \text{ g/mL}$$

$$N = 12,06 \text{ N}$$

Maka: Pembuatan larutan HCl 1 N 5 mL adalah

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 10 \text{ N.mL} / 12,06 \text{ N}$$

$$V_1 = 0,83 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 1 N diambil sebanyak 0,83 mL larutan HCl pekat 37 % dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL.

Pembuatan Larutan HCl 2 % adalah

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 2 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 2 % diambil sebanyak 0,5 mL larutan HCl pekat 37 % dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL.

L.3.2 Pembuatan Larutan Metanol 50 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Jadi diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL.

L.3.3 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)

- **Larutan stok konsentrasi 125 mg/mL**

$$\text{Massa sampel} = 125 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL} = 625 \text{ mg} = 0,625 \text{ g}$$

Sebanyak 0,625 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 5 mL, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 125 mg/mL sebanyak 5 mL.

- **Larutan stok konsentrasi 100 mg/mL**

$$\text{Massa sampel} = 100 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL} = 500 \text{ mg} = 0,5 \text{ g}$$

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 5 mL, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 100 mg/mL sebanyak 5 mL.

- **Larutan stok konsentrasi 75 mg/mL**

$$\text{Massa sampel} = 75 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL} = 375 \text{ mg} = 0,375 \text{ g}$$

Sebanyak 0,375 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 5 mL, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 75 mg/mL sebanyak 5 mL.

- **Larutan stok konsentrasi 50 mg/mL**

$$\text{Massa sampel} = 50 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL} = 250 \text{ mg} = 0,25 \text{ g}$$

Sebanyak 0,25 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 5 mL, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 50 mg/mL sebanyak 5 mL.

- **Larutan stok konsentrasi 25 mg/ mL**

$$\text{Massa sampel} = 25 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL} = 50 \text{ mg} = 0,05 \text{ g}$$

Sebanyak 0,05 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 5 mL, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 25 mg/mL sebanyak 5 mL.

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

L.4.1 Perhitungan Rendemen Hasil Pengeringan

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat Basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{121,82 \text{ g}}{256 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 47,58 \%\end{aligned}$$

L.4.2 Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Pekat}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \%$$

- Ekstrak Etanol $= \frac{6,9481 \text{ g}}{25 \text{ g}} \times 100\% = 27,79 \%$
- Ekstrak Etil asetat $= \frac{2,3647 \text{ g}}{14 \text{ g}} \times 100\% = 16,89 \%$
- Ekstrak Petroleum eter $= \frac{1,4081 \text{ g}}{25 \text{ g}} \times 100\% = 5,63 \%$

Lampiran 5. Perhitungan Jumlah Sel dan Diameter Zona Hambat

L.5.1 Hasil Pengukuran OD (*Optical Density*)

Panjang Gelombang	Absorbansi <i>S. typhi</i>		
	U1	U2	U3
620 nm	2,18	2,45	2,33

L.5.2 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Menggunakan Metode TPC (*Total Plate Count*)

Pengenceran	Jumlah Bakteri Hitung (cfu/mL)					
	U1		U2		U3	
	1	2	1	2	1	2
10 ⁻⁵	SP	SP	TBUD	TBUD	SP	SP
10 ⁻⁶	SP	SP	70	102	SP	SP
10 ⁻⁷	SP	SP	61	51	SP	SP
10 ⁻⁸	TBUD	TBUD	40	28	SP	SP
10 ⁻⁹	36	12	28	32	TBUD	TBUD
10 ⁻¹⁰	7	7	18	22	37	80
Jumlah Koloni	3,6x10 ¹¹	1,2x10 ¹¹	7x10 ⁸	10,2x10 ⁸	3,7x10 ¹²	8x10 ¹²
Rata-rata	2,4 x 10 ¹¹		8,6 x 10 ⁸		5,85 x 10 ¹²	
Total Rata-rata	2,75 x 10 ¹²					

Keterangan: TBUD : Terlalu banyak untuk dihitung
 SP (*Spreader*) : Koloni yang menutup lebih dari setengah luas cawan petri

L.5.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Cacing Laor

Jenis Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)									Kategori Daya Hambat	
	U1			U2			U3				Rata-rata
	1	2	Rata-rata	1	2	Rata-rata	1	2	Rata-rata		
Etanol	12	9	10,5	9	9	9	14	8	11	10,16	Kuat
Etil Asetat	7	6	6,5	7	7	7	7	7	7	6,83	Sedang
Petroleum Eter	5	6	5,5	6	5	5,5	6	6,5	6,25	5,75	Sedang

L.5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Cacing Laor

Jenis Ekstrak	Konsentrasi (mg/mL)	Diameter Zona Hambat (mm)										Kategori Daya Hambat
		U1			U2			U3			Rata-rata	
		1	2	Rata-rata	1	2	Rata-rata	1	2	Rata-rata		
Etanol	25	4,6	4,7	4,65	3,2	3,2	3,2	3,5	3	3,25	3,7	Lemah
	50	5,5	5,9	5,7	4,6	5,1	4,85	5	3,5	4,25	4.93	Lemah
	75	6,5	6,3	6,4	5,7	5,4	5,55	5,6	4,1	4,85	5,6	Sedang
	100	7,1	7,3	7,2	6,3	6,4	6,35	6,1	5,9	6	6,51	Sedang
	125	7,9	7,6	7,75	7,9	6,9	7,4	6,9	6,3	6,6	7,25	Sedang
K (+)	25	23,7	23,7	23,7	21,2	24,4	22,8	21,9	26	23,95	23,4	Sangat Kuat
	125	25,4	25,4	25,4	26,2	31,6	28,9	23,2	27	25,1	26,4	
K (-)	100	-			-			-			-	Tidak Ada

Keterangan :

K (+) : Kontrol positif menggunakan Kloramfenikol

K (-) : Kontrol negatif menggunakan DMSO

Diameter *paper disk* : 7 mm

Lampiran 6. Hasil Analisa dengan Anova One Way (SPSS) dan Uji BNT

ANOVA

Zona_Hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22,852	4	5,713	11,250	,001
Within Groups	5,078	10	,508		
Total	27,930	14			

Sig < 0,05 ada perbedaan antar perlakuan

Sig > 0,05 tidak ada perbedaan antar perlakuan

Homogeneous Subsets

Zona_Hambat

	Konsentrasi ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	25 mg/mL	3	3,7000		
	50 mg/mL	3	4,9333	4,9333	
	75 mg/mL	3	5,6000	5,6000	5,6000
	100 mg/mL	3		6,5167	6,5167
	125 mg/mL	3			7,2500
	Sig.		,052	,120	,101

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Konsentrasi Ekstrak Etanol: 1. 25 mg/mL = P₁ 3,7000 = a
 2. 50 mg/mL = P₂ 4,9333 = a,b
 3. 75 mg/mL = P₃ 5,6000 = a,b,c
 4. 100 mg/mL = P₄ 6,5167 = b,c
 5. 125 mg/mL = P₅ 7,2500 = c

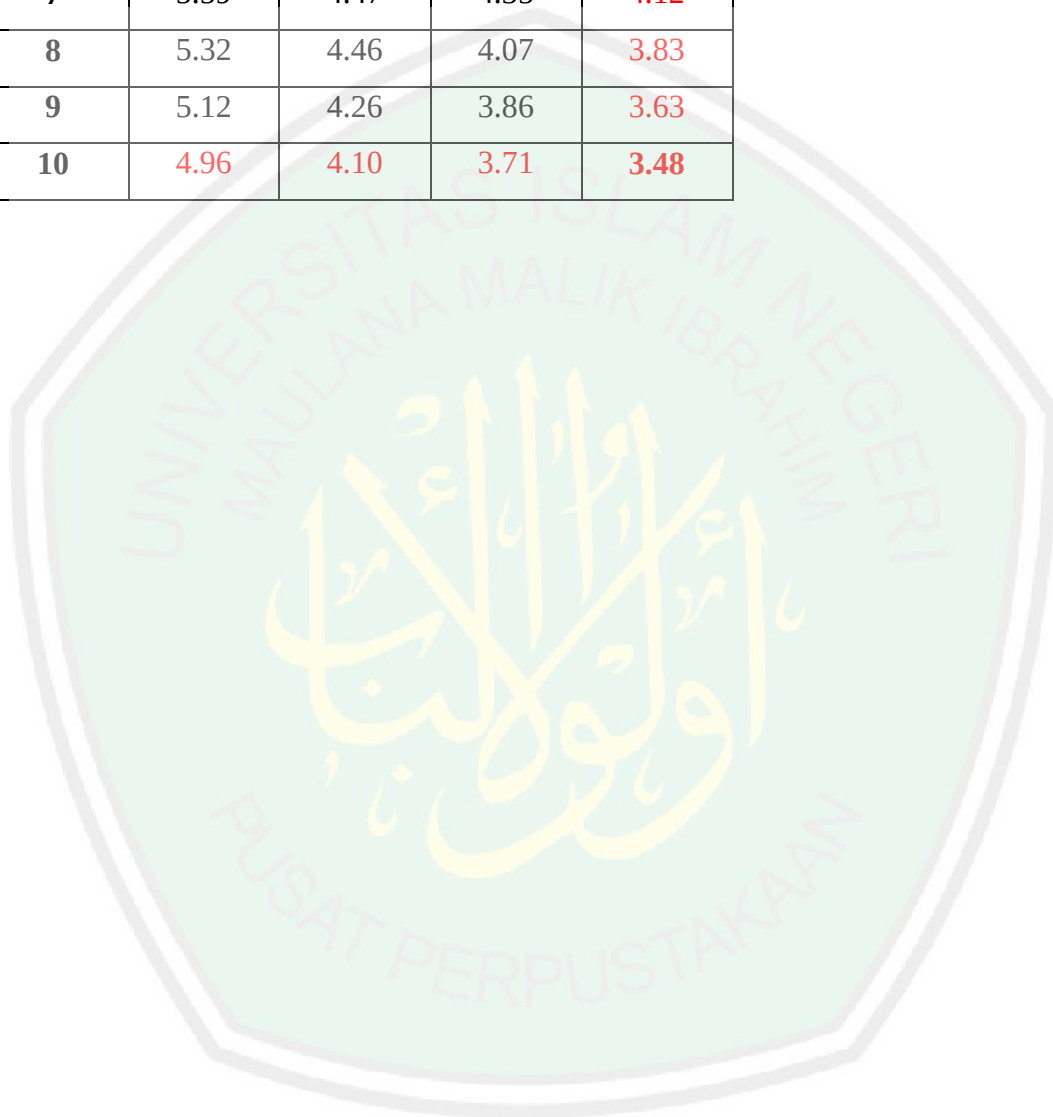
Dimana:

- Perlakuan 1, 2, dan 3 tidak beda nyata
- Perlakuan 1, 2, dan 3 berbeda nyata dengan perlakuan 4 dan 5
- Perlakuan 2, 3, dan 4 tidak berbeda nyata
- Perlakuan 2, 3, dan 4 berbeda nyata dengan perlakuan 1 dan 5
- Perlakuan 3, 4, dan 5 tidak berbeda nyata

- Perlakuan 3, 4, dan 5 berbeda nyata dengan perlakuan 1 dan 2
- Perlakuan 1 berbeda nyata dengan perlakuan 5

Data $F_{\text{tabel}} (0,05)$

df2/df1	1	2	3	4
7	5.59	4.47	4.35	4.12
8	5.32	4.46	4.07	3.83
9	5.12	4.26	3.86	3.63
10	4.96	4.10	3.71	3.48



Lampiran 7. Perhitungan *Retardation Factor* (Rf) dan Resolusi

L.7.1 Perhitungan *Retardation Factor* (Rf)

Golongan Senyawa	Fasa Gerak	Noda	Nilai Rf	Warna Noda	Dugaan Senyawa
Alkaloid	Kloro : Meta (4 : 1)	1	0,91	Jingga	Alkaloid
Saponin	Kloro : Meta : Air (13 : 7 : 2)	4	0,16	Biru	Flavonoid
			0,31	Biru tua	Flavonoid
			0,69	Biru	Flavonoid
			0,77	Merah	Triterpenoid
Triterpenoid	n-Butanol : NH ₄ OH (4 : 1)	4	0,20	Biru kehijauan	Flavonoid
			0,37	Biru kehijauan	Flavonoid
			0,50	Biru kehijauan	Flavonoid
			0,89	Ungu muda	Triterpenoid
Steroid	n-Heksan : EA (1 : 1)	2	0,40	Biru	Flavonoid
			0,62	Biru kehijauan	Flavonoid
Flavonoid	EA : Meta (4,5 : 0,5)	2	0,83	Ungu kegelapan	Saponin
			0,95	Biru	Flavonoid
Fenol	Toluena : EA : Asam Format (3 : 3 : 0,2)	4	0,52	Merah	Triterpenoid
			0,57	Merah	Triterpenoid
			0,90	Biru tua	Flavonoid
			0,96	Ungu kegelapan	Saponin

Keterangan : EA (Etil Asetat), Meta (Metanol), dan Kloro (Kloroform)

$$R_f = \frac{\text{Jarak Perjalanan Suatu Senyawa}}{\text{Jarak Perjalanan Suatu Fasa Gerak}}$$

1. Eluen Kloroform : metanol (4 : 1)

$$R_f \text{ noda 1} = \frac{6,37 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,91$$

2. Eluen Kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2)

$$R_f \text{ noda 1} = \frac{1,35 \text{ cm}}{8,3 \text{ cm}} = 0,16$$

$$R_f \text{ noda 2} = \frac{2,6 \text{ cm}}{8,3 \text{ cm}} = 0,31$$

$$R_f \text{ noda 3} = \frac{5,75 \text{ cm}}{8,3 \text{ cm}} = 0,69$$

$$R_f \text{ noda 4} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8,3 \text{ cm}} = 0,77$$

3. n-Butanol : NH₄OH (4 : 1)

$$R_f \text{ noda 1} = \frac{1,4 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,20$$

$$R_f \text{ noda 2} = \frac{2,59 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,37$$

$$Rf \text{ noda } 3 = \frac{3,5 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,50$$

$$Rf \text{ noda } 4 = \frac{6,23 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,89$$

4. n-Heksan : EA (1 : 1)

$$Rf \text{ noda } 1 = \frac{3,3 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,40$$

$$Rf \text{ noda } 2 = \frac{5,1 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,62$$

5. Etil Asetat : Metanol (4,5 : 0,5)

$$Rf \text{ noda } 1 = \frac{6,81 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,83$$

$$Rf \text{ noda } 2 = \frac{7,79 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,95$$

6. Toluena : EA : Asam format (3:3:0,2)

$$Rf \text{ noda } 1 = \frac{4,26 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,52$$

$$Rf \text{ noda } 2 = \frac{4,67 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,57$$

$$Rf \text{ noda } 3 = \frac{7,38 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,90$$

$$Rf \text{ noda } 4 = \frac{5,98 \text{ cm}}{8,2 \text{ cm}} = 0,96$$

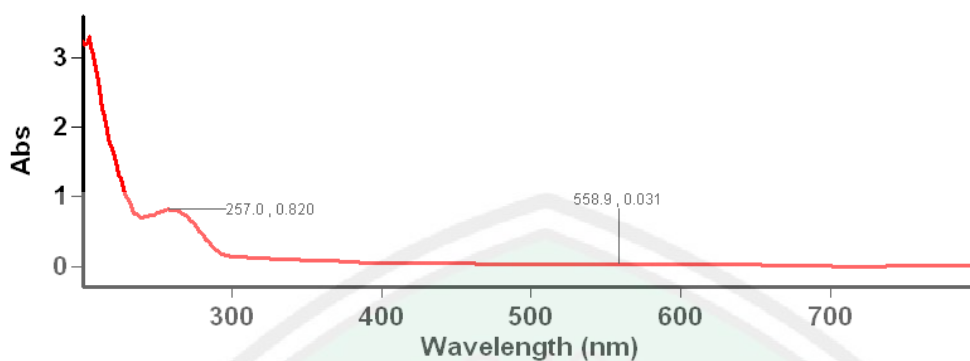
L.7.2 Resolusi

Golongan Senyawa	Fasa Gerak	Noda	Nilai Rf	Resolusi
Alkaloid	Kloro : meta (4 : 1)	1	0,91	
Saponin	Kloro : meta : air (13 : 7 : 2)	4	0,16	0,15
			0,31	0,38
			0,69	0,08
			0,77	
Triterpenoid	n-Butanol : NH ₄ OH (4 : 1)	4	0,20	0,17
			0,37	0,27
			0,50	0,39
			0,89	
Steroid	n-Heksan : EA (1 : 1)	2	0,40	0,22
			0,62	
Flavonoid	EA : Metanol (4,5 : 0,5)	2	0,83	0,12
			0,95	
Fenolik	Toluena : EA : Asam format (3:3:0,2)	4	0,52	0,05
			0,57	0,47
			0,90	0,06
			0,96	

Keterangan : EA (Etil Asetat), Meta (Metanol), dan Kloro (Kloroform)

Lampiran 8. Hasil Uji UV-Vis Ekstrak Etanol Cacing Laor

L.8.1 Lamdha Maksimum Ekstrak Cacing 100 ppm



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 08 Apr 11:05:10 AM 2019

Method:

Batch: D:\Irfan\Lamdha Maks Ekstrak Cacing Laut Pelarut Etanol 100 ppm (08-04-2019).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak cacing 100 ppm

Collection Time 4/8/2019 11:05:42 AM

Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	799.9nm to 200.1nm

Wavelength (nm)	Abs
-----------------	-----

558.9	0.031
257.0	0.820

L.8.2 Perhitungan Mekanika Kuantum Transisi Elektronik

- Hukum Persamaan Lambert-Beer

$$A = \epsilon \times b \times c$$

Keterangan: A = Absorban

ϵ = Ekstinsi (absorbtivitas molar)

b = Tebal kuvet (1 cm)

c = Konsentrasi (M)

- Molaritas Sampel

BM Saponin = 414 g/mol

$$M = \frac{0,1 \text{ g/L}}{414 \text{ g/mol}} = 2,4 \times 10^{-4} \text{ M}$$

- Pita I

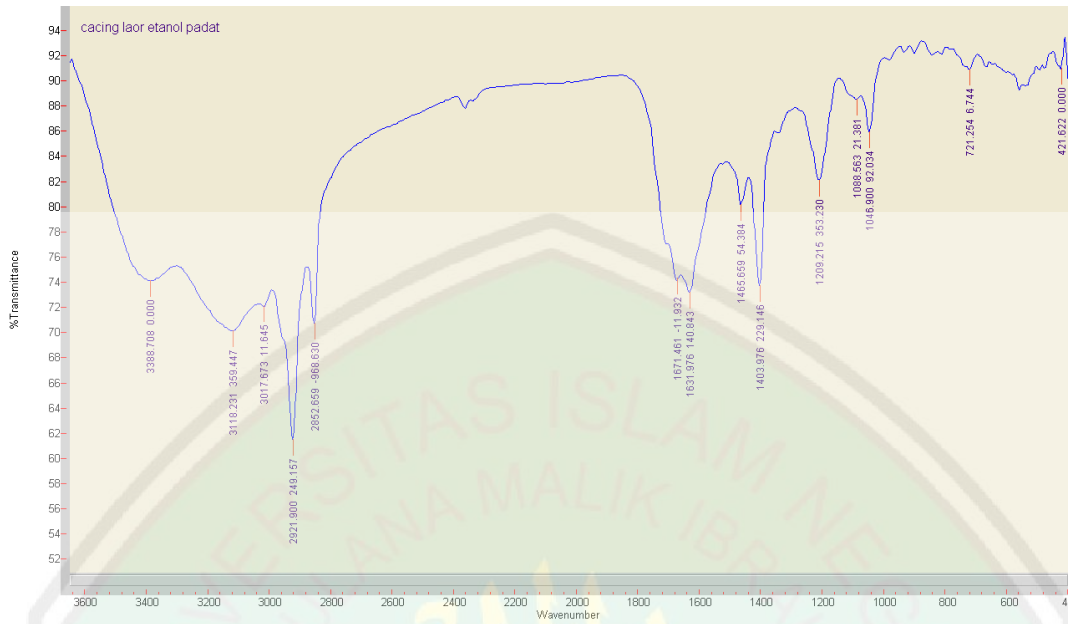
$$\varepsilon = \frac{0,031}{1 \text{ cm} \times 2,4 \times 10^{-4} \text{ M}} = 1,29 \times 10^{+2} \text{ M}$$

- Pita II

$$\varepsilon = \frac{0,820}{1 \text{ cm} \times 2,4 \times 10^{-4} \text{ M}} = 3,41 \times 10^3 \text{ M}$$



Lampiran 9. Hasil Uji FTIR Ekstrak Etanol Cacing Laor



Lampiran 10. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Proses pengambilan sampel cacing laor



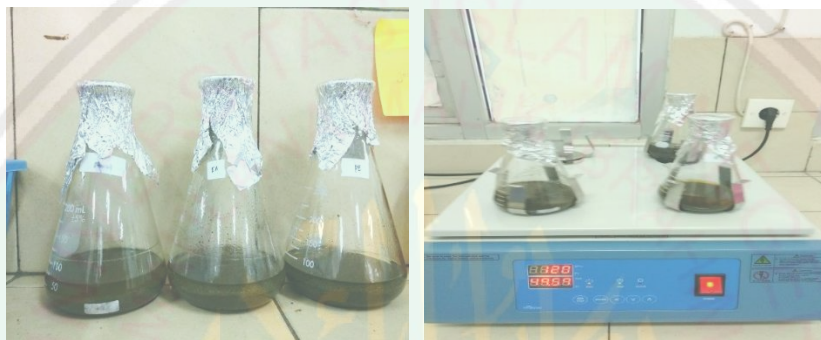
Sampel cacing laor dicuci dengan air bersih lalu dikering anginkan dalam ruang laboratorium



Sampel yang sudah kering ditimbang berat kasar dan dihaluskan dengan blender



Sampel kemudian diayak dan ditimbang berat simplisia (serbuk) cacing laor



Proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi



Proses penyaringan dan proses *rotary evaporator*



Hasil ekstrak cacing laor hasil *rotary evaporator*



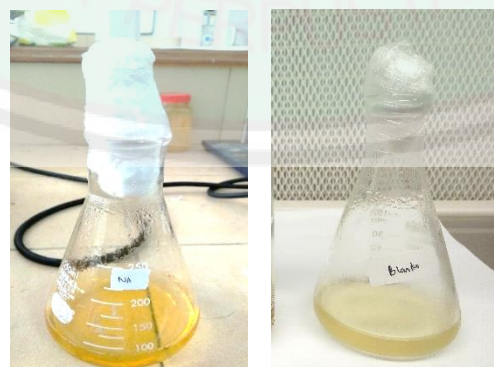
Proses penambahan gas N₂



Rendemen ekstrak setelah dialiri gas N₂



Biakan murni bakteri *S. typhi* dan *papar disk*



Pembuatan media NA dan media NB (blanko)



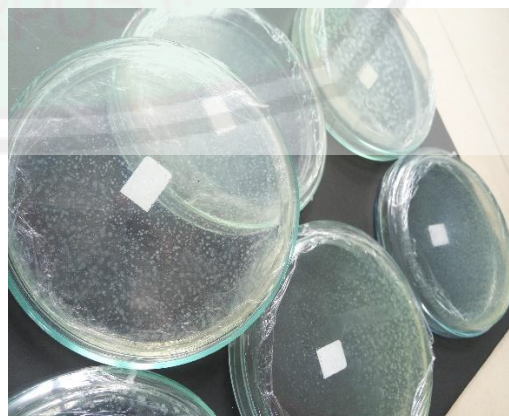
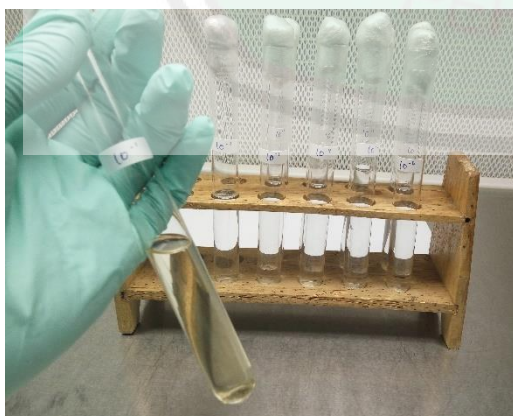
Sterilisasi alat, media dan pembuatan media NA miring



Hasil regenerasi bakteri *S. typhi* di media NA miring



Hasil inokulum bakteri *S. typhi* di media NB
(pembuatan inokulum stok dan inokulum kerja)



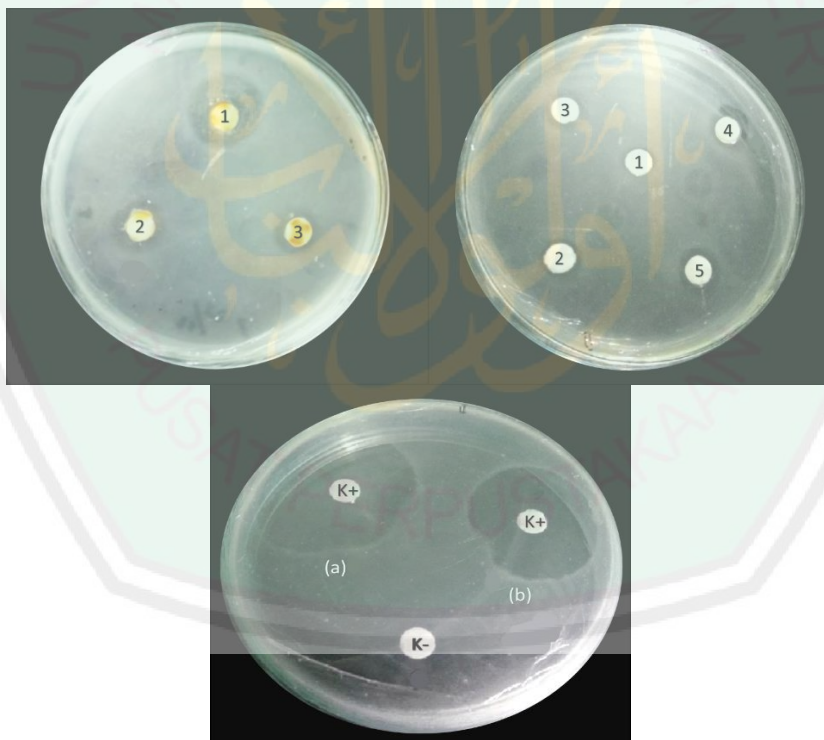
Proses perhitungan jumlah sel bakteri menggunakan metode TPC



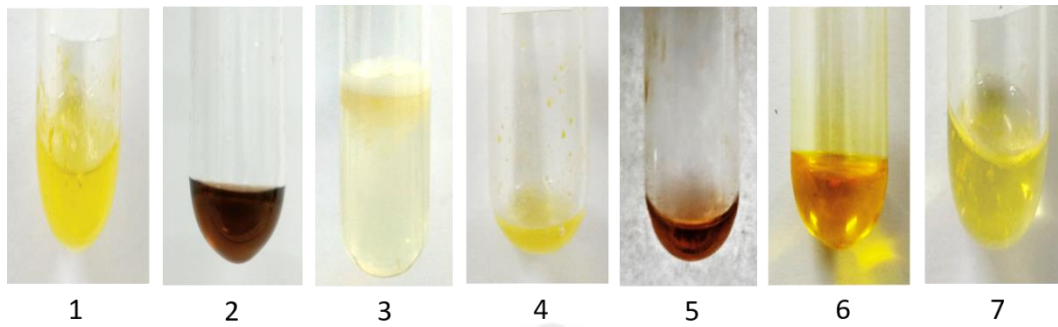
Proses uji aktivitas antibakteri



Variasi konsentrasi ekstrak etanol cacing laor



Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak cacing laor



Pengujian fitokimia ekstrak etanol cacing laor

