

## Biografi Penulis

**Dr. dr. Sri Wahyuni Nasution., MKT., MKM**, Sebagai dosen tetap di fakultas kedokteran Universitas Prima Indonesia. Mendapatkan gelar dokter di Universitas Islam Sumatera Utara pada tahun 2012. Lulus Magister Kedokteran Tropis di Universitas Sumatera Utara pada tahun 2017 dan Magister Kesehatan Masyarakat di Universitas Prima Indonesia pada tahun 2020. Lulus Doktor di Universitas Andalas tahun 2020. Pada saat ini menjabat sebagai Kaprodi Profesi di Universitas Prima Indonesia.



UNPRI PRESS

## BUKU MONOGRAF



UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK CACING TANAH  
*LUMBRICUS RUBELLUS* DAN *PHERETTIMA* SP TERHADAP BAKTERI  
*SALMONELLA TYPHI* DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Dr. dr. SRI WAHYUNI NASUTION, M.K.T., M.K.M



Editor :

Dr.dr. Ali napiah Nasution, M.K.T., M.K.M

dr. Sri Lestari Ramadhani Nasution, M.Biomed



UNPRI PRESS



**BUKU MONOGRAF**

**UJI EFEKTIVITAS DAYAHAMBAT EKSTRAK CACING TANAH *Lumbricus rubellus* DAN *Pheretima Sp*  
TERHADAP BAKTERI  
*Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

**DISUSUN OLEH :**

**Dr. dr. SRIWAHYUNI NASUTION, M.K.T., M.K.M**

**UNPRI PRESS**

**MONOGRAF**

**UJI EFEKTIVITAS DAYAHAMBAT EKSTRAK CACING TANAH *Lumbricus rubellus* DAN *Pheretima Sp*  
TERHADAP BAKTERI**

***Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

**Penulis**

**Dr.dr. Sri Wahyuni Nasution, MKT., MKM**

**Editor**

- 1. Dr.dr. Ali Napih Nasution, MKT., MKM**
- 2. dr. Sri Lestari Ramadhani Nasution, MKM., M.Biomed**

**ISBN**

**ISBN**

**Desain Cover**

**Kaldi Lawarsan Malau, S.Kom**

**Penerbit**

**Unpri Press**

**Universitas Prima Indonesia**

**Redaksi**

**Jl. Belanga No.1 Simp. Ayahanda, Medan**

**Cetakan Pertama**

**Hak Cipta dilindungi Undang-Undang**

**Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin  
dari penerbit**

## KATA PENGANTAR

---

Puji dan syukur kepda Tuhan Yang Maha Esa segala karunia dan rahmat yang telah diberikannya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan buku monogrof ini. Buku monogrof ini dengan judul “Uji efektivitas daya hambat ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*”. Ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* mempunyai efektivitas daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dan Berdasarkan klasifikasi zona hambat, ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* mulai menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% dengan respon daya hambat sedang. Berdasarkan klasifikasi zona hambat, ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% dengan respon daya hambat kuat.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan buku ini, oleh karenanya kritik, saran, dan masukan untuk menyempurnakan buku ini penulis mengharapkannya.

Medan, Juli 2022

Penulis

Dr. dr. Sriwahyuni Nasution, M.K.T., M.K.M

## DAFTAR ISI

---

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	i
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
<b>BAB 2 SALMONELLA TYPHI</b> .....	4
2.1 Salmonella typhi .....	4
2.2 Taksonomi Salmonella typhi .....	4
2.3 Morfologi Salmonella typhi .....	5
2.4 Patogenesis Salmonella typhi.....	5
<b>BAB 3 STAPHYLOCOCCUS AUREUS</b> .....	7
3.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
3.2 Taksonomi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
3.3 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3.4 Media Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3.5 Susunan Antigen <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3.6 Durabilitas <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3.7 Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
<b>BAB 4 CACING TANAH (<i>LUMBRICUS RUBELLUS</i>)</b> .....	10
4.1 Klasifikasi dan Identifikasi Cacing Tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ) .....	10
4.2 Morfologi Cacing Tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ).....	11
4.3 Habitat Cacing Tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ).....	12
4.4 Siklus Hidup Cacing Tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ) .....	13
4.5 Kandungan Bahan Kimia Cacing Tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ).....	13
4.6 Manfaat dan Khasiat Cacing Tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ) .....	14
<b>BAB 5 CACING TANAH (<i>PHERETIMA SP</i>)</b> .....	15

5.1 Klasifikasi dan Identifikasi Cacing Tanah ( <i>Pheretima sp</i> ) .....	15
5.2 Morfologi Cacing Tanah ( <i>Pheretima sp</i> ).....	15
5.3 Habitat Cacing Tanah ( <i>Pheretima sp</i> ).....	17
5.4 Kandungan Bahan Kimia Cacing Tanah ( <i>Pheretima sp</i> ).....	18
5.5 Manfaat dan Khasiat Cacing Tanah ( <i>Pheretima sp</i> ) .....	19
<b>BAB 6 METODE PENGUJIAN BAKTERI DAN EKSTRAKSI .....</b>	<b>20</b>
6.1 Metode Pengujian Antibakteri .....	20
6.1.1 Metode Difusi .....	20
6.1.2 Metode Dilusi.....	20
6.2 Ekstraksi.....	21
6.2.1 Deskripsi.....	21
6.2.2 Teknik Ekstraksi .....	21
<b>BAB 7 KAJIAN UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK CACING TANAH</b> <b><i>LUMBRICUS RUBELLUS</i> DAN <i>PHERETIMA SP</i> TERHADAP BAKTERI</b> <b><i>SALMONELLA TYPHI</i> DAN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>.....</b>	<b>23</b>
7.1 Desain Kajian .....	23
7.2 Alat-alat .....	23
7.3 Bahan.....	23
7.4 Prosedur Kerja Kajian .....	24
7.4.1 Tahapan Persiapan .....	24
7.4.2 Cara Kerja.....	25
<b>BAB 8 HASIL KAJIAN UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK CACING</b> <b>TANAH <i>LUMBRICUS RUBELLUS</i> DAN <i>PHERETIMA SP</i> TERHADAP</b> <b>BAKTERI <i>SALMONELLA TYPHI</i> DAN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>...</b>	<b>29</b>
8.1 Hasil HASIL KAJIAN UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK CACING TANAH <i>LUMBRICUS RUBELLUS</i> DAN <i>PHERETIMA SP</i> TERHADAP BAKTERI <i>SALMONELLA TYPHI</i> DAN <i>STAPHYLOCOCCUS</i> <i>AUREUS</i> .....	29
8.2 Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Lumbricus rubellus</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
8.3 Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Pheretima sp</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32

8.4 Diameter Zona Hambat Kontrol (+) dan Kontrol (-) Terhadap Bakteri Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus .....	34
8.5 Pembahasan .....	36
8.6 Kesimpulan .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>39</b>



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Durabilitas <i>Staphylococcus aureus</i> di berbagai macam zat kimia.....	9
Tabel 8.1 Hasil Diameter Zona Hambat Ektrak Cacing Tanah <i>Lumbricus rubellus</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
Tabel 8.2 Hasil Diameter Zona Hambat Ektrak Cacing Tanah <i>Pheretima sp</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhid</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
Tabel 8.3 Hasil Diameter Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
Tabel 8.4 Klasifikasi Diameter Zona Hambat Menurut Davis dan Stout .	36
Tabel 8.5 Pengukuran Diameter Zona Hambat Ektrak Cacing Tanah <i>Lumbricus rubellus</i> dan <i>Pheretima Sp</i> Menurut Davis dan Stout.....	36

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Salmonella typhi</i> .....	4
Gambar 3.1 <i>Staphylococcus aureus</i> diamati dari mikroskop elektron .....	7
Gambar 4.1 Cacing tanah ( <i>Lumbricus rubellus</i> ) .....	10
Gambar 4.2 Morfologi Cacing tanah <i>Lumbricus rubellus</i> .....	12
Gambar 5.1 Cacing tanah ( <i>Pheretima Sp</i> ).....	15
Gambar 5.2 Morfologi Cacing tanah <i>Pheretima Sp</i> .....	17
Gambar 8.1 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Lumbricus rubellus</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	29
Gambar 8.2 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Lumbricusrubellus</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
Gambar 8.3 Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Lumbricusrubellus</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
Gambar 8.4 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Pheretima Sp</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	32
Gambar 8.5 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Pheretima Sp</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
Gambar 8.6 Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah <i>Pheretima sp</i> Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
Gambar 8.7 Grafik Hasil Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	34
Gambar 8.8 Grafik Hasil Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
Gambar 8.9 Rata-rata Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35

# BAB 1 | PENDAHULUAN

---

## 1.1 Latar Belakang

**I**nfeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen yang menjadi penyebab meningkatnya angka kesakitan dan kematian pada negara berkembang khususnya Indonesia. Penyakit infeksi erat kaitannya dengan kesehatan lingkungan maupun perorangan serta kesadaran masyarakat yang kurang memadai untuk hidup sehat <sup>1</sup>.

Penyakit infeksi yang sering ditemukan disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Salmonella typhi* merupakan bakteri patogen penyebab demam tifoid yang menyebabkan infeksi akut pada saluran pencernaan. Demam tifoid dapat menular melalui 5F, yaitu (*food, feces, fomitus, finger, fly*) yang disebabkan karena masuknya bakteri *Salmonella typhi* dari makanan yang sudah terkontaminasi. Bakteri yang masuk ke lambung dihancurkan dan sebagian yang masuk ke usus akan berkembang biak. Manifestasi klinis yang muncul pada minggu pertama yaitu demam, gangguan gastrointestinal, nyeri kepala, nyeri otot, anoreksia, batuk dan epistaksi<sup>3</sup>.

Berdasarkan data dari *World Health Organization*(WHO) tahun 2009, terdapat 17 juta kasus demam tifoid pertahun diseluruh dunia dengan angka kematian sekitar 600.000 dan 70% dari Asia. Di Indonesia angka penderita demam tifoid sekitar 81% per 100.000<sup>5</sup>.

Pada tahun 2010 sekitar 41.081 kasus demam tifoid yang terjadi di rumah sakit dan menempati urutan ke-3 dari 10 penyakit rawat inap terbanyak, dengan angka kematian mencapai 274 orang dan *Case fatality rate* sebesar 0,67% berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2011 <sup>6</sup>.

Tingkat kejadian demam tifoid tertinggi terdapat pada usia 5-14 tahun (1,9%), usia 1-4 tahun (1,6%), usia 15-24 tahun (1,5%) dan usia <1 tahun (0,8%). Di Sumatera Utara demam tifoid terdeteksi dengan persentase 0,9% dan sebesar

0,2-0,3% tersebar diseluruh kabupaten atau kota. Persentase demam tifoid tertinggi terdapat di Kabupaten Nias Selatan sebesar 3,3 %<sup>7</sup>.

Bakteri *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab infeksi terbanyak. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri tipikal anaerob fakultatif Gram positif, berbentuk kokus dan patogen utama pada manusia. *Staphylococcus aureus* memiliki sifat koagulase-positif dan koloninya berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan. Pada manusia 20-50% *Staphylococcus aureus* dijumpai pada hidung. Beberapa orang pernah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus*, tetapi tingkat keparahannya berbeda-beda, dari keracunan makanan, infeksi kulit ringan maupun berat, pneumonia, artritis, meningitis, endokarditis dan sepsis dengan supurasi diberbagai organ<sup>8</sup>.

Riwayat imunitas dan usia anak memiliki hubungan yang kuat terhadap mikroba penyebab sepsis. Anak yang imunitasnya terganggu akan menderita sepsis yang diakibatkan oleh beraneka ragam bakteri. Pemicu tersering saat neonatus adalah bakteri *Staphylococcus aureus*<sup>9</sup>.

Berdasarkan data dari WHO diperoleh kematian neonatus sekitar 5 juta dengan angka kematiannya mencapai 34 per 1000 kelahiran yang hidup, dari 98% kematiannya dijumpai di negara berkembang. Di negara majukasus sepsis pada neonatus mencapai 1-4 per 1000 kelahiran yang hidup, serta dijumpai angka kematian 10,3% lebih kecil daripada negara berkembang yaitu 10-50 per 1000 kelahiran yang hidup dan angka kematiannya 12-68%<sup>10</sup>.

Pengobatan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan cara medis melalui terapi antibiotik maupun tradisional. Namun pemakaian antibiotik yang tidak terkontrol dapat menimbulkan resistensi terhadap antibiotik yang diberikan. Dengan timbulnya masalah ini, maka diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional yang alamiah sehingga dinilai lebih aman dan mempunyai toleransi yang lebih baik dibandingkan terapi antibiotik<sup>11</sup>.

Salah satu obat tradisional yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat adalah cacing tanah jenis *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima Sp*. Pada cacing *Lumbricus rubellus* mengandung protein sebesar 64-76%, lemak 7-10%, fosfor

1%, dan kalsium 0,55%. Pada ekstrak cacing tanah terdapat zat antipurin, antidot, vitamin, asam arakhidonat dan antipiretik yang mengandung asam askorbat untuk menurunkan kenaikan suhu tubuh akibat dari infeksi. Terdapat juga enzim yaitu lumbrokinase, katalase, selulosa, fosfatase, peroksidase, glukoronidase, dan lysozim yang berperan sebagai antimikroba dengan cara merusak dinding sel bakteri khususnya gram positif. Senyawa hyalin, granular *amoebocytes*, dan *chloragocytes* yang terkandung pada *Lumbricus rubellus* bermanfaat sebagai mekanisme imunitas dalam menghambat bakteri patogen dengan cara menghasilkan produk ekstraseluler yang bersifat sitotoksik, antibakteri dan berpengaruh pada proses fagositosis<sup>12</sup>.

Cacing tanah *Pheretima sp* mengandung protein sebesar 76%, asam glutamat 3,9%, tirosin 3,73%, lisin 1,13%, hidroksiprolin 19,04%, asam aspartat 4,15%, lemak 3% dan 75-100% air. Pada ekstrak cacing tanah terdapat juga enzim yaitu lumbrokinase, selulose, peroksidase dan terdapat senyawa asam arakhidonat, antipurin, antiracun, dan vitamin K yang berfungsi sebagai antipiretik dan antibakteri<sup>13</sup>.

Pada *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* terdapat senyawa bioaktif *Lumbricin 1* yang merupakan antimikroba golongan peptida yang berspektrum luas sehingga dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Cacing tanah merubah mekanisme permeabilitas membran dengan membuat pori di dinding sel bakteri, sehingga aktivitas dalam sel bakteri terganggu karena hilangnya metabolit sel dan sitoplasma terpapar lingkungan luar yang mengakibatkan sel menjadi lisis<sup>14</sup>.

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti ingin mengetahui efektivitas daya hambat ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

## BAB 2 | SALMONELLA TYPHI

### 2.1 *Salmonella typhi*

*Salmonella typhi* merupakan bakteri patogen yang berasal dari genus *Salmonella* yang merupakan penyebab dari *salmonellosis*. Sumber penularan berasal dari makanan dan minuman yang terkontaminasi dari feses penderita tifoid yang menyebabkan bermacam-macam infeksi yaitu gastroenteritis, demam tifoid dan bakteremia<sup>15</sup>.



Gambar 2.1. *Salmonella typhi*<sup>16</sup>.

### 2.2 Taksonomi *Salmonella typhi*

Kingdom	: Bakteria
Phylum	: Proteobacteria
Ordo	: Gamma protobacteria
Class	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i> <sup>8</sup> .

### 2.3 Morfologi *Salmonella typhi*

*Salmonella* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang dengan ukuran 0,7-1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0-5,0  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk spora, motil, berkapsul, dan mempunyai flagella. Bakteri ini dapat hidup selama satu jam pada pH 6-8 dan suhu 15-41°C, dan dapat mati jika dilakukan pasteurisasi, pendidihan, khlorinisasi, dan pemanasan dengan suhu 60°C selama 15-20 menit. *Salmonella typhi* mempunyai 3 macam antigen yaitu<sup>17</sup>:

1. Antigen O (Antigen somatik)

Merupakan antigen yang terdapat di lapisan luar tubuh kuman yang berperan penting untuk menentukan virulensi kuman. Antigen ini mempunyai struktur kimia lipopolisakarida atau endotoksin yang bersifat hidrofilik, tahan terhadap pemanasan suhu 100°C selama 2-5 jam, tahan alkohol dan etanol 96% selama 4 jam pada suhu 37°C tetapi tidak tahan terhadap formaldehid.

2. Antigen H (Antigen flagella)

Merupakan antigen yang terdapat pada flagella dan fimbrae yang melekat pada sitoplasma dinding sel kuman. Mempunyai struktur kimia yaitu protein yang tahan terhadap formaldehid dan terdenaturasi atau rusak oleh panas dan alkohol pada suhu 60°C.

3. Antigen Vi (Permukaan)

Merupakan antigen pada kapsul untuk melindungi kuman dari fagositosis dan mempunyai struktur kimia protein yang dapat mendeteksi karier. Antigen ini tidak tahan dan rusak jika dipanaskan pada suhu 60°C selama 1 jam dan apabila diberi asam dan fenol.

### 2.4 Patogenesis *Salmonella typhi*

Perjalanan *salmonella typhi* menyebabkan infeksi yaitu melalui masuknya kuman ke makanan dan minuman yang terkontaminasi melalui jalur fekal-oral. Keasaman lambung dengan pH  $\leq 3,5$  dapat menghalangi *salmonella typhi* ke usus halus, tetapi sebagian besar bakteri memiliki gen ATR (*acid tolerance response*) sehingga dapat bertahan dalam keadaan asam. Flora normal dan

motilitas dari peristaltik usus juga dapat menghanyutkan bakteri keluar sehingga menghambat terjadinya infeksi.

*Salmonella typhi* juga menghasilkan endotoksin yang dapat meningkatkan reaksi peradangan karena bersifat pirogenik. *Salmonella typhi* menempel di permukaan sel epitel usus yang mempunyai protein reseptor, terjadi proses fagositosis oleh sel inang bakteri, bermultiplikasi dan akan menginvasi bakteri pada epitel usus. Bakteri akan berkembang biak secara intraseluler dan melalui saluran limfe mesentrik bakteri masuk ke dalam peredaran darah sistemik dan terjadilah bakteremia pertama yang asimtomatis dengan masa inkubasi 7-14 hari. Setelah itu bakteri masuk dan melepaskan endotoksin ke hepar, sumsum tulang dan peredaran darah sehingga terjadilah bakteremia kedua. Bakteri yang terdapat di hepar masuk kembali ke usus kecil dan dikeluarkan bersama feses sehingga menyebabkan infeksi yang berulang<sup>15</sup>.



# BAB 3 | STAPHYLOCOCCUS AUREUS

## 3.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bibit penyakit paling banyak dijumpai pada manusia. Banyak orang pernah terinfeksi *Staphylococcus aureus* semasa hidupnya, seperti infeksi pada kulit dan keracunan makanan. *Staphylococcus aureus* bentuknya bulat dengan diameter 0,7-0,12  $\mu\text{m}$ , berkoloni, tidak bergerak dan anaerob fakultatif<sup>8</sup>.



Gambar 3.1 *Staphylococcus aureus* diamati dari mikroskop elektron

## 3.2 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> <sup>8</sup> .

### 3.3 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* bentuknya seperti permukaan bola, sisinya dapat terlihat sedikit rata jika susunannya tidak teratur dan berkelompok. Bakteri ini tidak menghasilkan spora dan termasuk gram positif. Pada media padat bakteri ini berkelompok dan tidak teratur, tetapi pada media kaldu bentuknya akan terpisah-pisah dan susunannya seperti rantai pendek<sup>8</sup>.

### 3.4 Media Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pada media kaldu dengan suhu 37°C *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik. Pada media agar, *Staphylococcus aureus* terlihat bulat, cembung, dengan diameter 1-2mm, mengkilat dengan karakteristik warnanya kuning keemasan. Kumpulan *Staphylococcus aureus* pada media agar darah bentuknya lebih besar dan jenis tertentu dikelilingi oleh area hemolisis. Pigmen *Staphylococcus aureus* terbentuk sangat baik di media Loeffler pada suhu kamar, tetapi pada suasana anaerob pigmennya tidak terbentuk<sup>8</sup>.

### 3.5 Susunan Antigen *Staphylococcus aureus*

Polisakarida antigenik dan protein merupakan kandungan dari *Staphylococcus aureus* yang terletak di dalam susunan dinding sel. Peptidoglikan merupakan polimer polisakarida yang memiliki subunit untuk membentuk dinding sel. Asam teikoat suatu polimer gliserol yang memiliki hubungan dengan peptidoglikan dan sifatnya antigenik. Protein A adalah unsur dari dinding sel strain *Staphylococcus aureus* yang berhubungan dengan unsur Fc dari partikel IgG<sup>8</sup>.

### 3.6 Durabilitas *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* tergolong mikroba yang unggul dalam durabilitas di antara mikroba yang tidak menghasilkan spora. Dalam situasi kering pada kertas, benang maupun nanah *Staphylococcus aureus* tetap aktif sekitar 6-14 minggu. Pada media agar miring, lemari es maupun di suhu kamar *Staphylococcus aureus* tetap aktif selama berbulan-bulan.

Tabel 3.1 Durabilitas *Staphylococcus aureus* di berbagai macam zat kimia<sup>8</sup>.

Zat Kimia	Durabilitas <i>Staphylococcus aureus</i>
Tinctura iodii 2%	1 menit
Hidrogen peroksida (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) 3%	3 menit
Merkuro klorida (HgCl <sub>2</sub> ) 1%	10 menit
Fenol (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH) 2%	15 menit
Alkohol 50-70%	1 jam

### 3.7 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* dapat dijumpai di hidung pada 20-50% manusia. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah keracunan makanan, karena makanan tersebut mengandung enterotoksin. Beberapa keahlian patogenik dari *Staphylococcus aureus* adalah efek faktor toksin dan ekstraseluler yang digabung beserta sifat invasif strain bakteri tersebut. Dari sifat *Staphylococcus aureus* yang invasif memproduksi koagulase serta pigmen kuning dan sifatnya hemolitik<sup>8</sup>.

**4.1 Klasifikasi dan Identifikasi Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)**

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) termasuk dalam kelompok binatang avertebrata (tidak bertulang belakang) dan tergolong ke dalam filum Annelida karena seluruh tubuhnya tersusun atas segmen berbentuk cincin (*annulus*). *Lumbricus rubellus* termasuk dalam kelas Oligochaeta karena memiliki setae yang sangat sedikit pada segmen dengan ditandai terdapatnya rambut keras berukuran pendek. Segmentasi ini terjadi diluar maupun di dalam meliputi otot, saraf, alat sirkulasi, alat ekskresi dan alat reproduksi. Klasifikasi cacing tanah *Lumbricus rubellus* adalah sebagai berikut <sup>18</sup>:

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

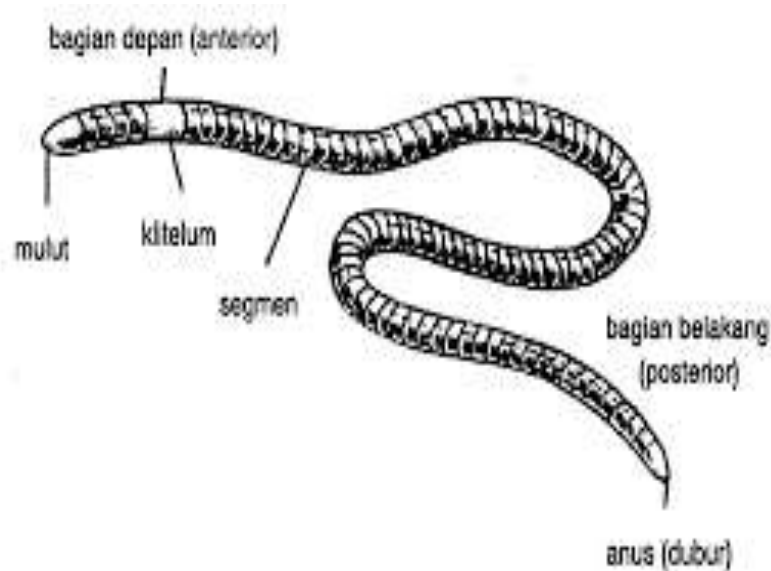


Gambar 4.1 Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*)

#### 4.2 Morfologi Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) hidup di dalam tanah di daerah tropis dan mempunyai bentuk tubuh simetris bilateral yang dilapisi kutikula tipis. Tubuh cacing tanah pada bagian atas (dorsal) berwarna merah muda sampai berwarna merah tua dan berbentuk bulat sedangkan pada bagian bawah (ventral) berwarna lebih muda dan berbentuk pipih. Pada tubuhnya terdapat lendir yang dihasilkan oleh kelenjar epidermis untuk melicinkan tubuh, mempermudah gerakan dalam tanah, dan membantu pernafasan. Ukuran tubuh cacing tanah relatif kecil dengan panjang 4-7cm dan mempunyai 100 sampai 180 segmen, dan tiap segmen mempunyai beberapa setae yang berfungsi sebagai alat pencengkaman di tempat cacing tanah berada. Cacing tanah tidak memiliki mata, dengan adanya prostomium yang merupakan organ saraf perasa akan membuatnya lebih peka terhadap benda-benda disekelilingnya. Organ pencernaan pada cacing tanah berupa prostomium yang berbentuk seperti bibir, faring, esofagus, tembolok, lambung otot (empela), usus dan anus. Sistem pernapasan cacing tanah dibantu oleh kulit sebagai alat untuk pertukaran oksigen dan karbondioksida. Sirkulasi pernapasan tersebut melalui pembuluh kapiler di seluruh jaringan kutikula yang terdapat pada lapisan atas kulit. Kutikula berfungsi untuk menjaga kelembaban melalui lendir yang disekresikan oleh epidermis. Oksigen yang masuk ke dalam pembuluh darah selanjutnya diedarkan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah. Sistem reproduksi cacing tanah bersifat hemaprodit yaitu memiliki alat kelamin jantan dan betina dalam satu tubuh, tetapi hewan ini tidak dapat membuahi dirinya sendiri. Alat kelamin betina terdiri atas sepasang ovarium yang terletak pada segmen ke-13 di bagian depan dan sepasang infundibulum yang masing-masing bermuara dalam kantong telur yang terletak pada bagian depan segmen ke-14. Alat kelamin jantan terdiri atas dua pasang testes (setiap pasang testes terletak pada segmen 10 dan segmen 11), dan dua buah kantong testes. Pada cacing tanah dewasa yang berumur 2,5-3 bulan terdapat klitelum yang memegang peranan penting pada saat kopulasi berlangsung yaitu sebagai organ kelamin sekunder pada cacing tanah, mensekresikan lendir untuk menyelubungi perlekatan cacing dengan

pasangannya, melindungi dan melancarkan jalannya spermatozoa pada saat kopulasi serta membentuk dinding kokon. Klitelum merupakan bagian tubuh yang menebal dan melingkar menyerupai kalung serta memiliki warna yang lebih terang dari warna tubuhnya<sup>18</sup>.



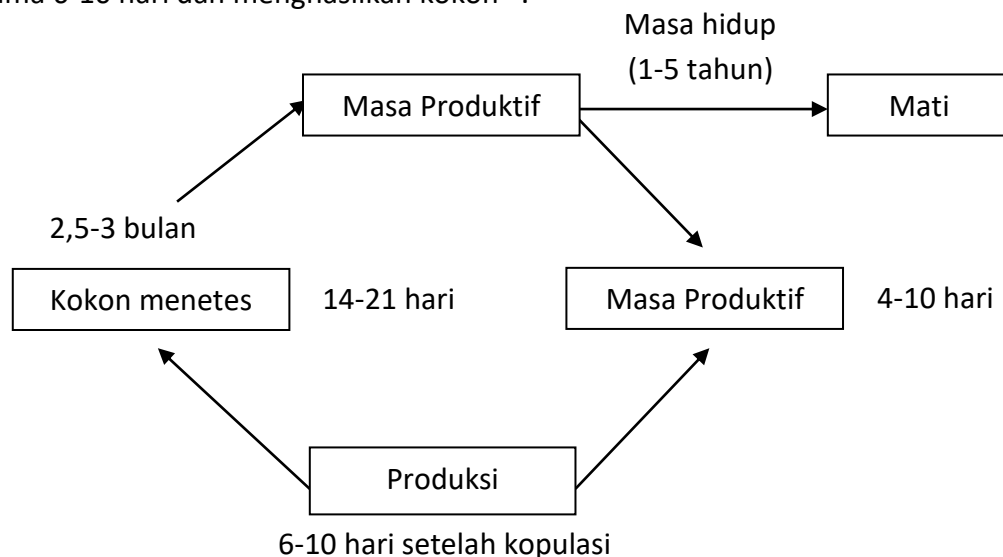
Gambar 4.2 Morfologi Cacing Tanah

#### 4.3 Habitat Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) hidup di tanah yang terlindung dari sinar matahari, lembap, gembur dan mengandung bahan organik dalam jumlah besar. Bahan-bahan organik tanah dapat berasal dari serasah (daun-daun gugur), kotoran ternak atau tanaman dan hewan yang mati. Kondisi tanah yang dibutuhkan cacing tanah agar dapat tumbuh dengan baik yaitu tanah yang sedikit asam sampai netral atau pH sekitar 6-7,2. Pada kondisi ini, bakteri dalam tubuh cacing tanah dapat bekerja optimal untuk mengadakan pembusukan atau fermentasi. Kelembapan yang optimal untuk pembusukan dan perkembangbiakan cacing tanah antara 15-30%. Suhu lingkungan yang dibutuhkan sekitar 15-25°C, dan suhu yang lebih tinggi dari 25°C masih baik asalkan memiliki naungan yang cukup dan kelembapan optimal<sup>12</sup>.

#### 4.4 Siklus Hidup Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Lama dari siklus hidup dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, keberadaan cadangan makanan dan jenis cacing tanah. Siklus hidup cacing tanah dimulai dari kokon, cacing muda atau juvenii, cacing produktif dan cacing tua. Cacing tanah mulai berkembang dari kokon. Kokon yang baru keluar dari tubuh cacing umumnya berwarna kuning kehijauan dan akan berubah menjadi kemerahan sewaktu akan menetas. Kokon akan menetas sekitar 14-21 hari setelah terlepas dari tubuh cacing tanah. Setelah menetas cacing tanah muda hidup dan menjadi cacing dewasa dalam waktu 2,5-3 bulan. Cacing tanah dewasa akan kawin selama 6-10 hari dan menghasilkan kokon<sup>18</sup>.



#### 4.5 Kandungan Bahan Kimia Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mengandung protein yang tinggi yaitu 64-76%, lemak 7-10%, kalsium 0,55%, fosfor 1%, dan serat kasar 1,08%. Protein yang terkandung terdiri dari sembilan macam asam amino dan empat macam asam amino non-esensial. Sembilan macam asam amino esensial tersebut meliputi arginin, histidin, leusin, isoleusin, valin, metionin, fenilalanin, lisin, dan treonin. Sedangkan empat macam asam amino non-esensial ialah sistein, glisin, serin, dan tirosin. Di dalam ekstrak cacing tanah juga terdapat zat antipurin, antidota, vitamin, asam arakhidonat dan antipiretik yang mengandung asam askorbat untuk menurunkan peningkatan suhu tubuh akibat dari infeksi.

Terdapat juga enzim seperti lumbrokinase, peroksidase, katalase, selulosa, fosfatase, glukoronidase, dan lysozim yang berperan sebagai antimikroba yang dapat merusak dinding sel gram positif dan melindungi dari serangan mikroba patogen. Pada cacing tanah terdapat senyawa bioaktif *Lumbricin 1* yang merupakan antimikroba golongan peptida yang berspektrum luas sehingga dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Cacing tanah merubah mekanisme permeabilitas membran dengan membuat pori di dinding sel bakteri, sehingga aktivitas dalam sel bakteri terganggu karena sitoplasma terpapar lingkungan luar dan mengakibatkan sel menjadi lisis. Mekanisme imunitas dari cacing tanah dalam menghambat bakteri patogen adalah dengan cara menghasilkan hyalin, dan granular *amoebocytes* yang mempunyai kemampuan dalam proses fagositosis dan *chloragocytes* yang dapat menghasilkan produk ekstraseluler yang bersifat sitotoksik dan antibakteri<sup>12, 14</sup>.

#### 4.6 Manfaat dan Khasiat Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Salah satu jenis cacing tanah yang banyak dimanfaatkan di kehidupan masyarakat yaitu *Lumbricus rubellus*. Manfaat dari *Lumbricus rubellus* adalah sebagai berikut<sup>12</sup> :

1. Mengobati penyakit infeksi saluran pencernaan seperti typhus dengan cara mencuci cacing terlebih dahulu dan direbus, kemudian air rebusan tersebut diminum.
2. Sebagai antipiretik yang aman karena tidak menimbulkan efek toksik sehingga aman dikonsumsi.
3. Pada bidang pertanian dapat bermanfaat untuk menyuburkan dan meningkatkan populasi mikroba yang menguntungkan tanaman, sebagai penghancur dan pendaur ulang limbah bahan organik sehingga memperbaiki aerasi dan struktur tanah, dan kotorannya dapat dijadikan sebagai pupuk organik.
4. Sebagai bahan baku kosmetik, pakan unggas ternak, ikan, dan burung kicau.
5. Makanan sumber protein.



## BAB 5 | CACING TANAH (*PHERETIMA SP*)

### 5.1 Klasifikasi dan Identifikasi Cacing Tanah (*Pheretima sp*)

Cacing tanah (*Pheretima sp*) merupakan cacing tanah yang paling banyak ditemukan di Indonesia. Cacing tanah ini termasuk dalam kelompok binatang avertebrata (tidak bertulang belakang) dan mempunyai tubuh yang lunak. Seluruh tubuhnya tersusun atas segmen-segmen pendek (seta), berbentuk cincin dan pada setiap segmen terdapat rambut keras sehingga digolongkan dalam filum Annelida. Klasifikasi cacing tanah *Pheretima sp* adalah sebagai berikut<sup>18</sup>:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Annelida
Class	: Chaetopoda
Ordo	: Oligochaeta
Family	: Megascolecidae
Genus	: <i>Pheretima</i>
Spesies	: <i>Pheretima sp</i>



Gambar 5.1 Cacing Tanah (*Pheretima sp*)

### 5.2 Morfologi Cacing Tanah (*Pheretima sp*)

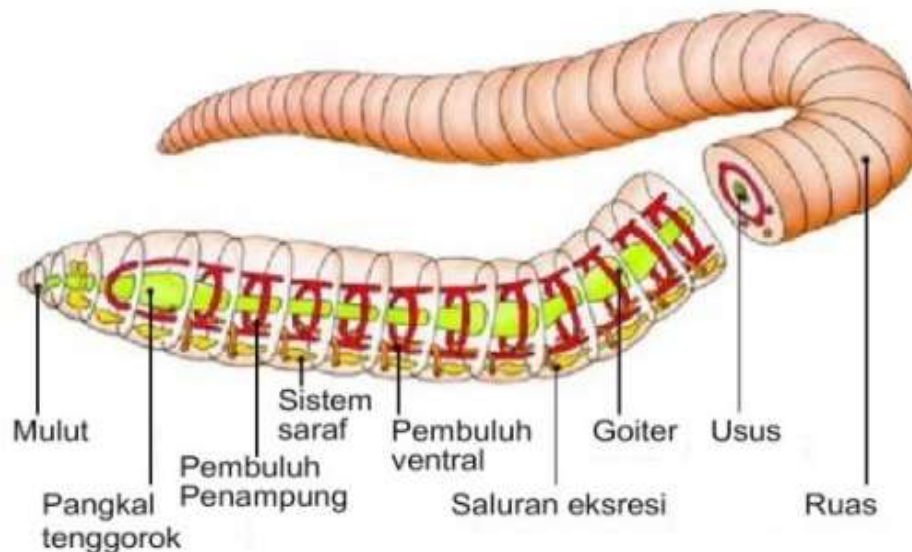
Tubuh cacing tanah terbagi menjadi lima bagian, yakni bagian depan (anterior), bagian tengah, bagian belakang (posterior), bagian punggung (dorsal),

dan bagian bawah atau perut (ventral). Warna tubuh pada bagian anterior lebih hitam dibandingkan dengan bagian posterior, sedangkan pada bagian ventral memiliki warna lebih gelap dibandingkan bagian dorsal yang berwarna agak kebiruan. Cacing tanah ini memiliki ukuran tubuh 110-140mm, diameternya 3-5mm, dan jumlah segmen yaitu 102-125 segmen. Pada segmen pertama terdapat mulut cacing yang dilengkapi dengan prostomium tipe epilobus yaitu saraf perasa agar cacing lebih peka terhadap benda sekitarnya, sedangkan pada segmen terakhir terdapat anus. Tiap segmen terdapat setae yaitu sebagai alat perlekatan pada permukaan tanah dan membantu terjadinya kopulasi. Cacing tanah tidak memiliki alat gerak, untuk mempermudah pergerakannya di tempat yang padat dan kasar, kelenjar epidermis menghasilkan lendir untuk melicinkan tubuh cacing tanah.

Saluran pencernaan pada cacing tanah terdiri dari mulut, faring, kerongkongan, crop yaitu pelebaran dari kerongkongan, perut otot, usus, dan anus. Makanan yang dimakan oleh cacing diambil menggunakan prostomium, disalurkan dan dihancurkan oleh gerakan otot di lambung. Enzim-enzim dikeluarkan untuk mencerna makanan dan di serap oleh usus menjadi bentuk yang sederhana dan diedarkan ke seluruh tubuh cacing tanah. Sistem pernapasan cacing tanah dibantu oleh kulit yang diperoleh dengan cara melepaskan karbondioksida melalui membran luar kulit sehingga memperoleh oksigen. Oksigen yang masuk akan bercampur dengan hemoglobin dan diedarkan keseluruh jaringan.

Sistem reproduksi cacing tanah bersifat hemaprodit yaitu memiliki alat kelamin jantan dan betina dalam satu tubuh, tetapi hewan ini tidak dapat membuahi dirinya sendiri dan tetap membutuhkan pasangan. Dalam sekali bertelur cacing tanah dapat menghasilkan 200 butir telur, 2 sampai 3 hari kemudian telur akan menetas membentuk individu baru. Lubang kelamin jantan terletak pada segmen ke-17 dan berjumlah sepasang, sedangkan lubang kelamin betina terletak pada segmen ke-14. Pada cacing dewasa terdapat klitelum yang berbentuk seperti cincin berupa penebalan pada bagian tubuh cacing dan lebih

terang dari bagian tubuhnya. Klitelum terletak di antara anterior dan posterior dan berfungsi untuk perkembangbiakan<sup>14, 18</sup>.



Gambar 5.2 Morfologi Cacing Tanah *Pheretima sp.*

### 5.3 Habitat Cacing Tanah (*Pheretima sp*)

Cacing tanah *Pheretima sp* hidup di tanah yang lembap, gembur dan terlindung dari sinar matahari untuk mempertahankan cadangan air dalam tubuhnya. Cacing ini juga dapat ditemukan di tumpukan sampah organik yang sudah terurai karena banyak mengandung humus atau bahan organik untuk perkembangan dan pertumbuhan cacing tanah. Bahan-bahan organik tanah dapat berasal dari serasah (daun-daun gugur), kotoran ternak atau tanaman dan hewan yang telah mati yang merupakan sumber makanan untuk cacing tanah. Cacing ini hidup pada kedalaman 2-6 meter, tekstur tanah sedang sampai halus, dan tidak terganggu dengan pengolahan tanah. Keadaan lingkungan yang ideal agar cacing tanah dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik yaitu kondisi tanah yang sedikit asam sampai netral dengan pH sekitar 6-7,2, suhu lingkungan untuk pertumbuhan cacing dan penetasan kokon sekitar 15-25°C, dan kelembapan tanah yang juga mempengaruhi pertumbuhan dan kemampuan reproduksi cacing tanah. Kelembapan yang ideal sekitar 15-50%, sedangkan kelembapan optimumnya adalah rH 42%- 60%<sup>18</sup>.

#### 5.4 Kandungan Bahan Kimia Cacing Tanah (*Pheretima sp*)

Cacing tanah *Pheretima sp* mengandung protein sebesar 76%, asam glutamat 3,9%, tirosin 3,73%, lisin 1,13%, hidroksiprolin 19,04%, asam aspartat 4,15%, lemak 3% dan 75-100% air. Di dalam ekstrak cacing tanah tersebut terdapat enzim seperti lumbrokinase, peroksidase dan selulose, dan terdapat zat antipiretik yaitu asam arakhidonat, antipurin, antiracun, dan vitamin K yang berfungsi untuk menurunkan suhu tubuh dan menghambat pertumbuhan bakteri. Pada cacing tanah terkandung sembilan asam amino esensial yaitu arginin, histidin, leusin, isoleusin, valin, metionin, fenilalanin, lisin, dan treonin dan empat macam asam amino non esensial yaitu sistin, glisin, serin, dan tirosin. Pada proses pemurnian protein ekstrak cacing tanah terdapat 7 pita protein, pada protein pita ke-6 terdapat zona hambat yang hampir sama besar dibandingkan antibiotik kloramfenikol<sup>18</sup>.

Pada cacing tanah terdapat senyawa bioaktif *Lumbricin 1* yang merupakan antimikroba golongan peptida yang berspektrum luas yaitu sebagai bentuk pertahanan alamiah terhadap mikroba patogen yang akan menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Cacing tanah merubah mekanisme permeabilitas membran dengan membuat pori di dinding sel bakteri, sehingga aktivitas dalam sel bakteri terganggu karena hilangnya metabolit sel dan sitoplasma terpapar lingkungan luar yang mengakibatkan sel menjadi lisis. Didalam tubuh cacing tanah terdapat mikroba yang dapat menghasilkan antibakteri yaitu *Streptomyces*. Genus *Streptomyces* termasuk dalam golongan actinomycetes yang berhubungan erat dengan bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif seperti *Salmonella typhi*. *Streptomyces* dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang sering digunakan dalam bidang pengobatan seperti streptomisin, aureomisin, kloramisetin, teramisin, eritromisin, dan magnamisin<sup>14</sup>.

### 5.5 Manfaat dan Khasiat Cacing Tanah (*Pheretima sp*)

Salah satu jenis cacing tanah yang banyak dimanfaatkan di kehidupan masyarakat yaitu *Pheretima sp*. Manfaat dari *Pheretima sp* adalah sebagai berikut<sup>14, 18</sup>:

1. Dapat mengobati penyakit typhus dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhi*, menyembuhkan luka, radang tenggorokan, serta mengurangi rasa nyeri dan demam.
2. Mengandung enzim yang berguna untuk memperbaiki proses fisiologi tubuh dan melancarkan sirkulasi darah.
3. Digunakan sebagai antipiretik, antibakteri, antispasmodik, destoksik, antiosmotik, antihipertensi dan antialergi.
4. Pada bidang pertanian dapat bermanfaat untuk menyuburkan lahan dengan cara memperbaiki struktur tanah, meningkatkan daya serap air, memecah materi organik dan meningkatkan manfaat bahan limbah organik. Dapat juga bermanfaat sebagai pendaur ulang limbah dan pada kotoran cacing tanah mengandung unsur hara penting bagi tanaman yaitu N, P, K.
5. Sebagai bahan baku obat, pakan ternak dan kosmetik yang berguna untuk menghaluskan dan melembutkan kulit dan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan makanan dan minuman.

# BAB 6 METODE PENGUJIAN BAKTERI DAN EKSTRAKSI

## 6.1 Metode Pengujian Antibakteri

### 6.1.1 Metode Difusi

Dalam metode ini, pemilihan kegiatan harus dilihat dari kemampuan difusi zat antimikroba pada lempeng agar yang sudah diinokulasi terhadap mikroba yang akan diuji. Dari metode ini hasil pengamatan yang didapatkan adalah ada atau tidak adanya area hambatan di daerah zat antimikroba saat masa inkubasi.

1. Pedoman: difusi antibiotik ke dalam media
2. Nama lainnya adalah disk-diffusion method atau Kirby-Bauer test
3. Pada permukaan media agar yang sudah diinokulasi dengan cara diinkubasi, perataan dan dilihat terbentuknya area hambatan diletakkan cakram antibiotik.
4. Mengenali efektivitas antibiotik terhadap karakter mikroba seperti sensitive maupun resistant.
5. Perubahan metode difusi adalah E test, dapat menentukan sensitivitas antibiotik dan perkiraan MIC = KHM (konsentrasi terendah antibiotik yang dapat menghalangi pertumbuhan bakteri dengan cara visual), dapat dilakukan dengan menempatkan plastik strip pada permukaan agar, kemudian mengukur gradient area hambatan.
6. Kekurangannya: efek bakterisidal dari antibiotik tidak dapat ditentukan<sup>19</sup>.

### 6.1.2 Metode Dilusi

Dalam metode ini, zat antimikroba dan media agar dicampurkan, kemudian diinokulasi terhadap mikroba uji. Dari metode ini diperoleh hasil pengamatan berupa tumbuh atau tidak tumbuhnya mikroba di dalam media. Konsentrasi hambat minimum (KHM) digunakan untuk menentukan aktivitas zat

antimikroba dengan melihat konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih melepaskan efek hambatan terhadap mikroba uji.

1. Pedoman : seri pengenceran konsentrasi antibiotik
2. Menentukan MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) = KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) serta MKC (*Minimal Killing Concentration*) = KBM (konsentrasi Bunuh Minimal) dari antibiotik
3. Seri pengenceran antibiotik di dalam tabung berisi media cair serta bakteri uji diinokulasikan kemudian amati tingkat kekeruhannya. Hasilnya disebut MIC jika terjadi pengenceran tertinggi pada media cair yang jernih, kemudian tabung jernih tersebut diinkubasi, diinokulasi pada media plate agar dan amati ada atau tidaknya pertumbuhan koloni. Pengenceran tertinggi terjadi pada tabung yang jernih hal ini menandakan tidak terjadi pertumbuhan pada plate agar selaku MKC<sup>19</sup>.

## 6.2 Ekstraksi

### 6.2.1 Deskripsi

Ekstraksi adalah proses pemisahan substansi kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dan memenuhi baku yang telah ditetapkan<sup>19</sup>

### 6.2.2 Teknik Ekstraksi

1. Maserasi

Merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Pelarut masuk dan menembus dinding sel dan rongga sel yang mengandung zat aktif. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan diluar sel membuat zat aktif larut. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan.

## 2. Perkolasi

Metode perkolasi dilakukan dengan cara serbuk simplisia dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (bejana silinder dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut dialirkan pada bagian atas serbuk simplisia dan dibiarkan menetes. Tahapan perkolasi terdiri dari pengembangan bahan, perendaman antara, perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan perkolat) sampai diperoleh ekstrak.

## 3. Soxhlet

Metode soxhlet mempunyai prinsip kerja dengan pemanasan dan perendaman sampel. Dilakukan dengan meletakkan serbuk simplisia ke dalam sarung selosa ataupun kertas saring dan menempatkannya diatas labu beserta pelarutnya, lalu dimasukkan ke ruangan ekstraksi dengan temperatur ruangan dibawah suhu reflux.

## 4. Refluks

Metode refluks dilakukan dengan merendam ekstrak dan pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor dan dipanaskan hingga mendidih. Uap akan terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

## 5. Infusa

Metode infusa dilakukan dengan menyiapkan serbuk yang telah dibersihkan dan diranjang hingga halus. Selanjutnya, dimasukkan kedalam panci infus lalu tambahkan larutan yang sesuai dan dipanaskan selama 15 menit<sup>19</sup>.



# BAB 7

## KAJIAN UJI EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK CACING TANAH *LUMBRICUS RUBELLUS* DAN *PHERETIMA SP* TERHADAP BAKTERI *SALMONELLA TYPHI* DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

### 7.1 Desain Kajian

Kajian ini adalah Kajian eksperimental laboratorium menggunakan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan menguji efektivitas daya hambat ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp.*

### 7.2 Alat-alat

➤ Autoklaf	➤ <i>laminar Air Flow Cabinet</i>
➤ batang pengaduk	➤ lampu bunsen
➤ <i>beaker glass</i>	➤ lemari pendingin
➤ blender	➤ lemari pengering
➤ cawan porselin	➤ mikropipet
➤ cawan petri	➤ penangas air
➤ erlenmeyer	➤ pinset
➤ gelas ukur	➤ plastic wrapping
➤ <i>hot plate</i>	➤ oven
➤ jangka sorong	➤ rak tabung reaksi
➤ jarum ose	➤ rotary evaporator
➤ kertas saring	➤ sendok
➤ kertas perkamen	➤ spatula
➤ timbangan analitik	➤ tabung reaksi
➤ vial	➤ vortex.

### 7.3 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquadest, etanol 96%, cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp.*, nutrient agar, nutrient broth,

kloramfenikol, pecadang kertas berdiameter 6 mm, dimetilsulfoksida (DMSO). Bakteri yang digunakan adalah *Salmonella typhi* ATCC 14028 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## 7.4 Prosedur Kerja Kajian

### 7.4.1 Tahapan Persiapan

#### 1. Pengolahan Sampel

Cacing tanah yang telah diambil dicuci menggunakan air mengalir, lalu dijemur dibawah sinar matahari sampai rapuh dan diblender sampai menjadi serbuk.

#### 2. Pembuatan Ekstrak Etanol Cacing Tanah

Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan cara :

- a) Sebanyak 400 gram serbuk simplisia dimasukkan kedalam wadah maserasi, lalu tambahkan etanol 96% sebanyak 75% dari serbuk simplisia yaitu 3000 ml atau sampai seluruh serbuk terendam.
- b) Wadah ditutup dan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari, lalu diaduk dan disaring.
- c) Ampas dicuci dengan 1000 ml etanol 96% kemudian disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari selama 2 hari, kemudian disaring.
- d) Seluruh hasil penyaringan didiamkan lalu diuapkan dengan menggunakan rotary vacum evaporator pada suhu 40<sup>0</sup>C dan dipekatkan dengan penangas air sampai diperoleh ekstrak yang kental.

#### 3. Pembuatan Konsentrasi

Pembuatan konsentrasi menggunakan rumus, yaitu :

$$\text{Konsentrasi (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{volume pelarut}} \times 100\%$$

a)  $100\% = \frac{100g}{100mL} \times 1mL = 1g$  ekstrak di larutkan dalam 1mL DMSO

- b)  $80\% = \frac{80g}{100mL} \times 1mL = 0,8g$  ekstrak di larutkan dalam 1mL DMSO
- c)  $60\% = \frac{60g}{100mL} \times 1mL = 0,6g$  ekstrak di larutkan dalam 1mL DMSO
- d)  $40\% = \frac{40g}{100mL} \times 1mL = 0,4g$  ekstrak di larutkan dalam 1mL DMSO
- e)  $20\% = \frac{20g}{100mL} \times 1mL = 0,2g$  ekstrak di larutkan dalam 1mL DMSO

#### 7.4.2 Cara Kerja

##### 1. Sterilisasi Alat

Seluruh alat disterilkan sebelum digunakan. Alat-alat gelas disterilkan kedalam oven pada suhu 170°C selama 1-2jam. Media disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

##### 2. Pembuatan Media Nutrient Agar dan Nutrient Broth

Sebanyak 28 g nutrient agar dan 13 g nutrient broth ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian disuspensikan ke dalam air suling sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut, lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

##### 3. Pembuatan Agar Miring

Sebanyak 3 ml media nutrient agar yang telah diencerkan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C. Diletakkan pada sudut kemiringan 30°C dan dibiarkan memadat.

##### 4. Pembiakan Bakteri

###### a) Pembuatan Stok Kultur Bakteri dan Peremajaan Bakteri

Dilakukan untuk memperbanyak bakteri dengan menginokulasi 1 ose biakan murni bakteri dengan teknik menggoreske dalam nutrient agar miring, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam di dalam inkubator.

###### b) Penyiapan Inokulum

Dengan menggunakan jarum ose steril, ambil masing-masing satu koloni bakteri dari stok kultur, lalu suspensikan ke tabung reaksi

yang berisi 10 ml nutrient broth steril, dan diinkubasi pada suhu 33-37°C selama 18-24 jam.

#### 5. Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 0,1 ml inokulum ( $10^6$  CFU/ml) dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian media nutrient agar dituangsebanyak 15 ml dengan suhu 40°C. Agar suspensi bakteri dan media tercampur merata, homogenkan cawan petri di atas permukaan meja dan biarkan sampai media memadat.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Letakkan cakram kertas yang sudah direndam pada setiap konsentrasi dan dibiarkan 15 menit, kemudian diinkubasi pada inkubator dengan suhu 35-39°C, selanjutnya zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.<sup>31</sup>



**KETERANGAN:**

1. Pengeringan cacing di bawah sinar matahari
2. Setelah beberapa hari dikeringkan di bawah sinar matahari
3. Serbuk simplisia cacing kering
4. Filtrasi
5. Rotary evaporator
6. Perendaman simplisia dalam etanol dan diekstrak dengan teknik maserasi



**KETERANGAN**

:

1. Pengeringan cacing di bawah sinar matahari
2. Simplisia cacing kering
3. Serbuk simplisia cacing kering
4. Filtrasi
5. Rotary evaporator
6. Perendaman simplisia dalam etanol dan diekstrak dengan teknik maserasi

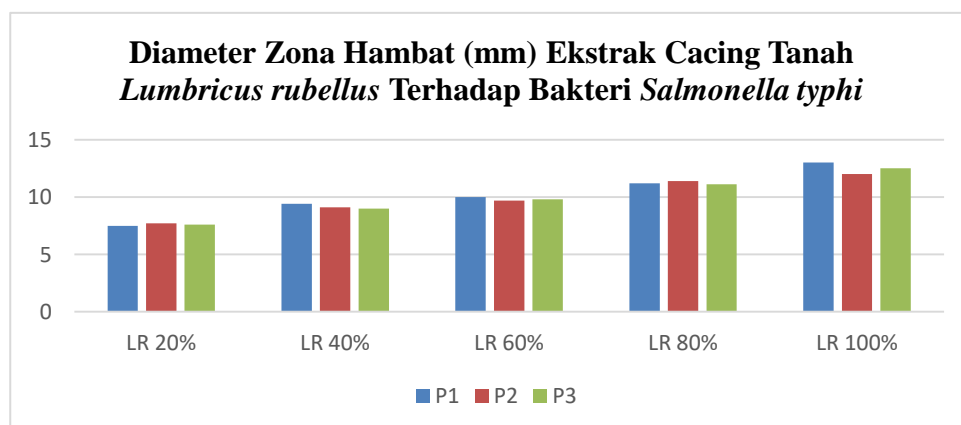
## BAB 8

# HASIL KAJIAN Uji Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

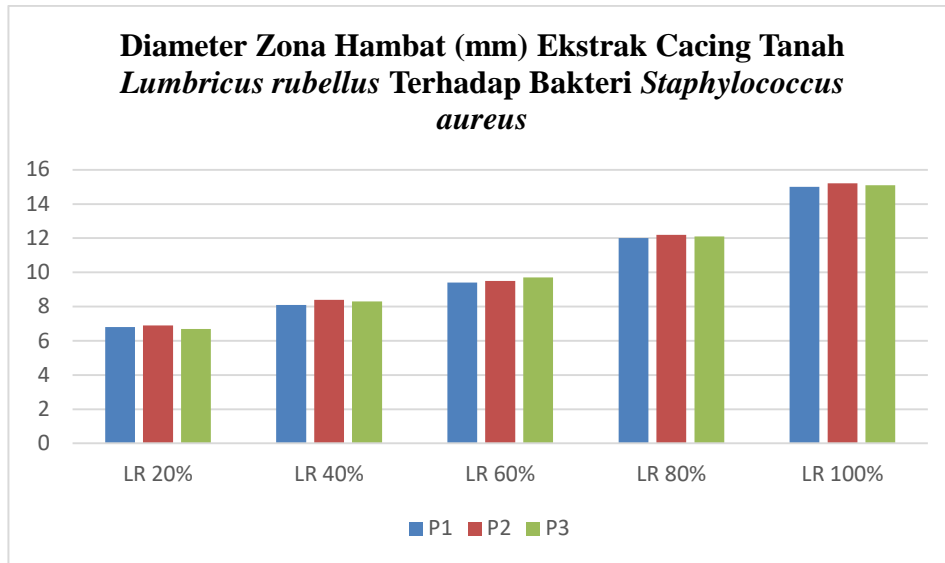
### 8.1 Hasil HASIL KAJIAN Uji Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan data yang telah dikumpulkan dan dianalisa, maka ditemukan daya antibakteri yang diperoleh dari ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diuji dengan menggunakan metode difusi cakram Kirby-bauer. Dengan menggunakan uji sensitivitas diperoleh zona hambat di sekitar kertas cakram yang telah ditetesi beberapa konsentrasi dengan tiga kali pengulangan yaitu pengulangan 1 (P1), pengulangan 2 (P2), dan pengulangan 3 (P3). Zona Hambat tersebut diukur dengan menggunakan jangka sorong dan didapatkan zona hambat seperti gambar dan tabel dibawah ini.

### 8.2 Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*



Gambar 8.1 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

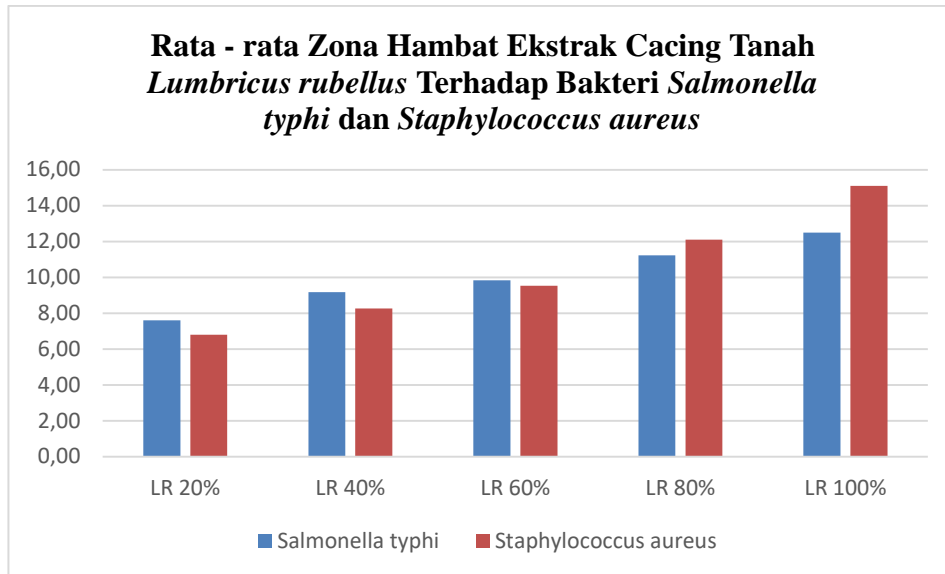


Gambar 8.2 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 8.1 Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* Terhadap Bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm) <i>Lumbricus rubellus</i>					
	<i>Salmonella typhi</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
20%	7,5	7,7	7,6	6,8	6,9	6,7
40%	9,4	9,1	9,0	8,1	8,4	8,3
60%	10,0	9,7	9,8	9,4	9,5	9,7
80%	11,2	11,4	11,1	12,0	12,2	12,1
100%	13,0	12,0	12,5	15,0	15,2	15,1

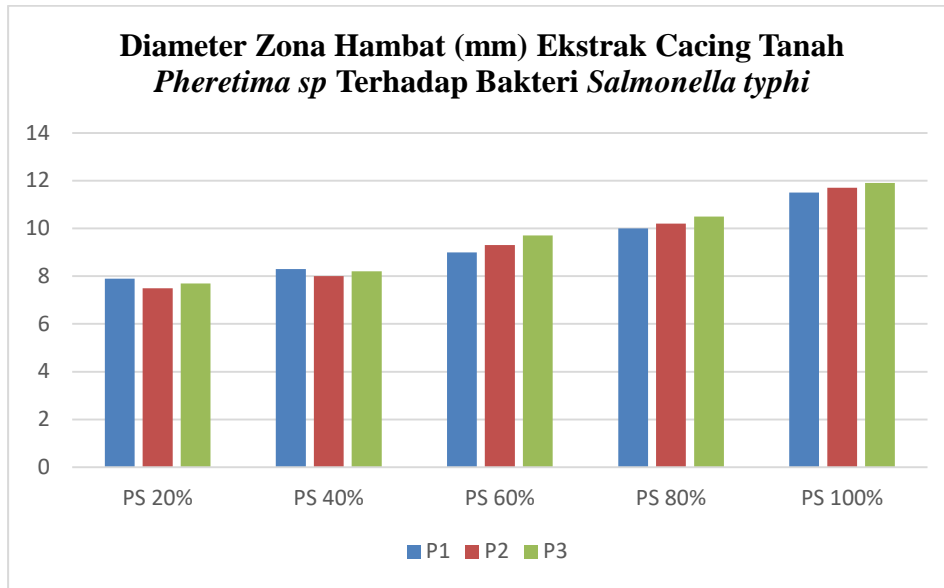




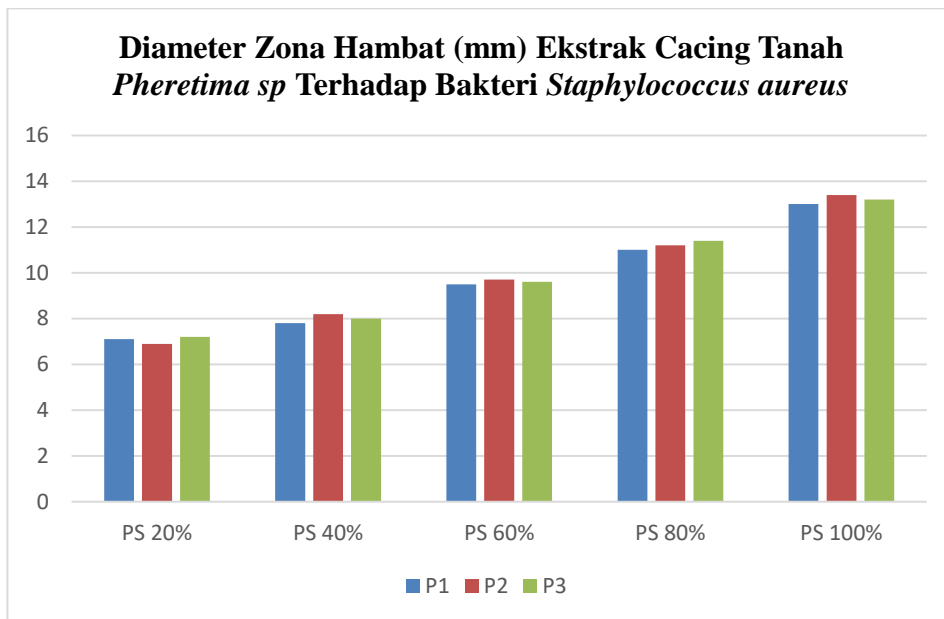
Gambar 8.3 Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Pada uji terhadap bakteri *Salmonella typhi* rata-rata zona hambat secara berurutan yaitu pada konsentrasi 20% adalah 7,60 mm, konsentrasi 40% adalah 9,17 mm, konsentrasi 60% adalah 9,83 mm, konsentrasi 80% adalah 11,23 mm, dan konsentrasi 100% adalah 12,50 mm. Diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% dan diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 100%. Pada uji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* rata-rata zona hambat secara berurutan yaitu pada konsentrasi 20% adalah 6,80 mm, konsentrasi 40% adalah 8,27 mm, konsentrasi 60% adalah 9,53 mm, konsentrasi 80% adalah 12,10 mm, dan pada konsentrasi 100% adalah 15,10 mm. Diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% dan diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 100%.

### 8.3 Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*



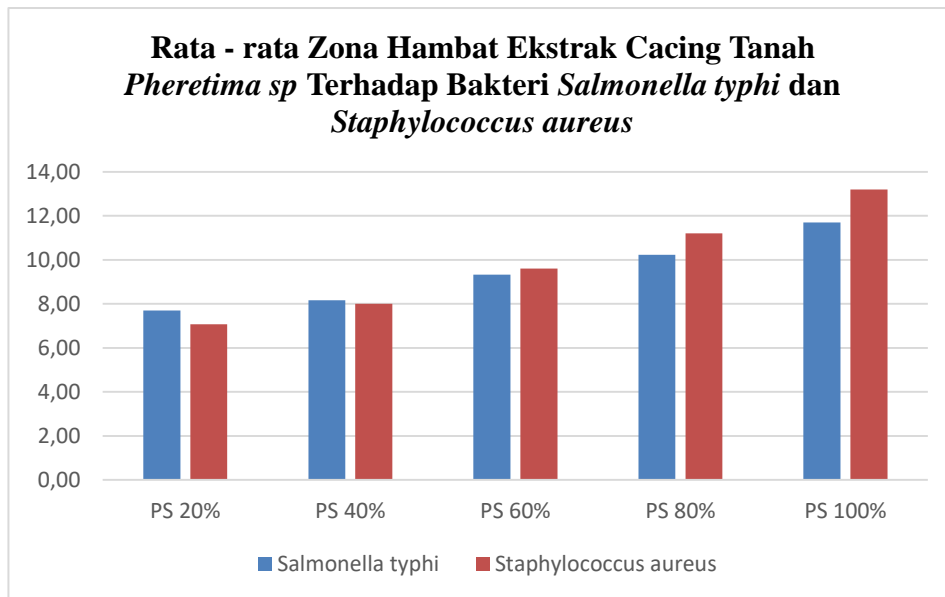
Gambar 8.4 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*



Gambar 5.5 Grafik Hasil Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 8.2 Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm) <i>Pheretima sp</i>					
	<i>Salmonella typhi</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
20%	7,9	7,5	7,7	7,1	6,9	7,2
40%	8,3	8,0	8,2	7,8	8,2	8,0
60%	9,0	9,3	9,7	9,5	9,7	9,6
80%	10,0	10,2	10,5	11,0	11,2	11,4
100%	11,5	11,7	11,9	13,0	13,4	13,2

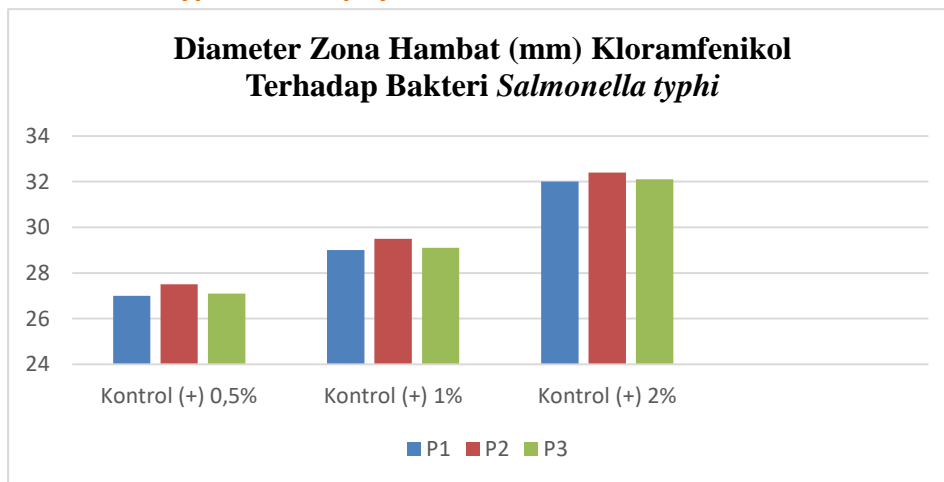


Gambar 8.6 Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Pheretima sp* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

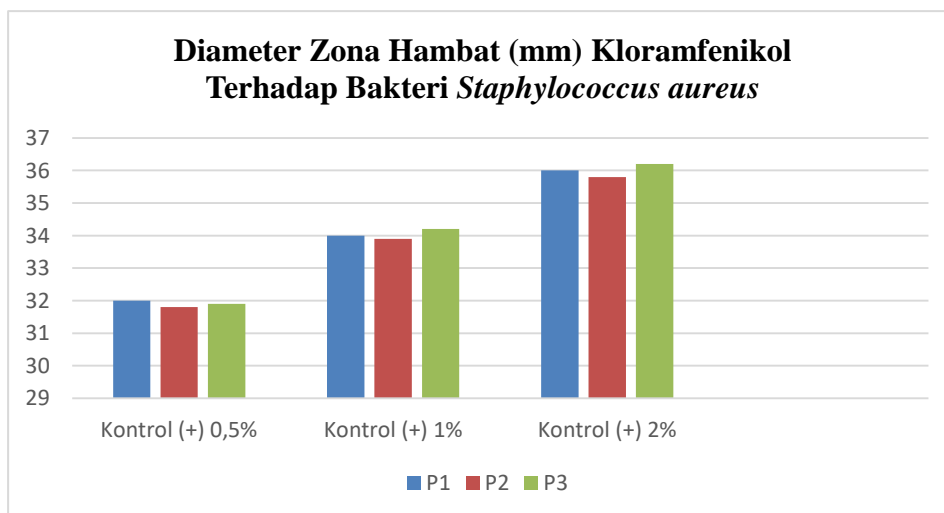
Pada uji terhadap bakteri *Salmonella typhi* rata-rata zona hambat secara beurutan yaitu pada konsentrasi 20% adalah 7,70 mm, konsentrasi 40% adalah 8,17 mm, konsentrasi 60% adalah 9,33 mm, konsentrasi 80% adalah 10,23 mm, dan konsentrasi 100% adalah 11,70 mm. Diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% dan diameter zona hambat tertinggi terdapat

pada konsentrasi 100%. Pada uji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* rata-rata zona hambat secara beurutuan yaitu pada konsentrasi 20% adalah 7,07 mm, konsentrasi 40% adalah 8,00 mm, konsentrasi 60% adalah 9,60 mm, konsentrasi 80% adalah 11,20 mm, dan konsentrasi 100% adalah 13,20 mm. Diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% dan diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 100%.

#### 8.4 Diameter Zona Hambat Kontrol (+) dan Kontrol (-) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*



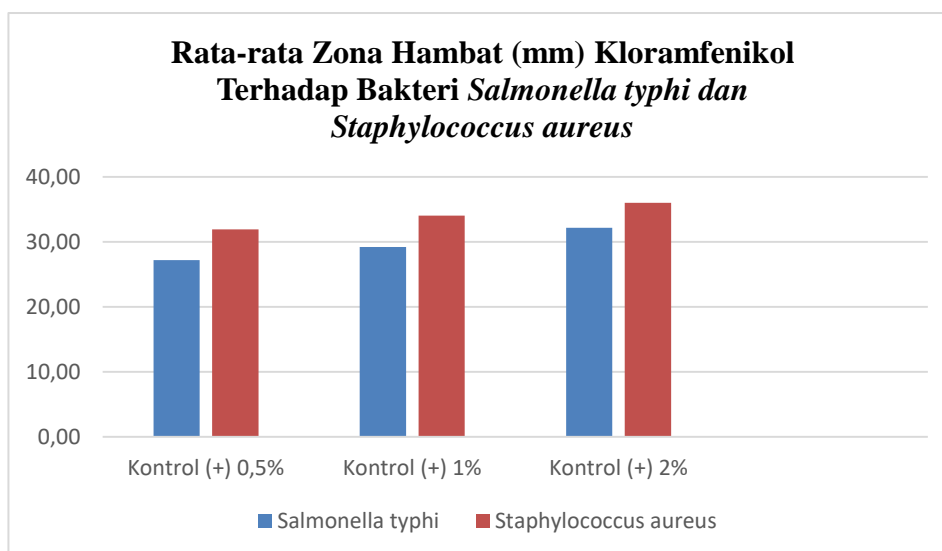
Gambar 8.7 Grafik Hasil Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*



Gambar 8.8 Grafik Hasil Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 8.3 Hasil Diameter Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm) Kloramfenikol					
	<i>Salmonella typhi</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Kontrol (+)						
0,5%	27,0	27,5	27,1	32,0	31,8	31,9
1%	29,0	29,5	29,1	34,0	33,9	34,2
2%	32,0	32,4	32,1	36,0	35,8	36,2



Gambar 8.9 Rata-rata Zona Hambat Kloramfenikol Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan pada tabel dan gambar pada uji kontrol negatif yang menggunakan larutan DMSO menunjukkan tidak adanya pengaruh terhadap daya hambat dan uji antibakteri. Pada uji kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella typhi* rata-rata zona hambat secara berurutan yaitu pada konsentrasi 0,5% adalah 27,20 mm, konsentrasi 1% adalah 29,20 mm, dan konsentrasi 2% adalah 32,17 mm. Pada uji kloramfenikol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* rata-rata zona hambat secara berurutan yaitu pada konsentrasi 0,5% adalah

31,90 mm, konsentrasi 1% adalah 34,03 mm, dan konsentrasi 2% memiliki rata – rata 36,00 mm.

### 8.5 Pembahasan

Berdasarkan hasil kajian diperoleh ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* memiliki efektivitas daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yaitu dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram.

Tabel 8.4 Klasifikasi Diameter Zona Hambat Menurut Davis dan Stout

Diameter (mm)	Kriteria zona hambat
>20	Sangat kuat
10-19	Kuat
5-9	Sedang
<5	Lemah

Tabel 8.5 Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* Menurut Davis dan Stout

Konsentrasi	Rata-Rata Diameter Zona Hambat dan Kriteria Hambat			
	<i>Lumbricus rubellus</i>		<i>Pheretima sp</i>	
	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
20%	7,60 = Sedang	6,80 = Sedang	7,70 = Sedang	7,07 = Sedang
40%	9,17 = Sedang	8,27 = Sedang	8,17 = Sedang	8,00 = Sedang
60%	9,83 = Sedang	9,53 = Sedang	9,33 = Sedang	9,60 = Sedang
80%	11,23 = Kuat	12,10 = Kuat	10,23 = Kuat	11,20 = Kuat
100%	12,50 = Kuat	15,10 = Kuat	11,70 = Kuat	13,20 = Kuat

Berdasarkan tabel 3.5 ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* mulai menghambat bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% dengan kriteria hambat sedang, sedangkan ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* pada konsentrasi 100% terhadap bakteri

*Staphylococcus aureus* memiliki kriteria hambat yang paling efektif dibandingkan dengan ekstrak cacing tanah *Pheretima sp.* Pada kontrol positif yaitu kloramfenikol memiliki zona hambat yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan respon daya hambat sangat kuat. Kajian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitria (2017) dengan menggunakan ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Dimana ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* mulai menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50%– 100%. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Lilis (2010) menyatakan ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* memiliki efek bakterisid terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*<sup>12, 15</sup>.

Hal ini menunjukkan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin meningkat aktivitas antibakteri yang ditandai dengan peningkatan zona hambat karena semakin banyak kandungan senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak. Hal yang menyebabkan terbentuknya zona hambat adalah karena pada cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* terdapat senyawa bioaktif *Lumbricin 1* yang merupakan antimikroba golongan peptida yang berspektrum luas sehingga dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Cacing tanah merubah mekanisme permeabilitas membran dengan membuat pori di dinding sel bakteri, sehingga aktivitas dalam sel bakteri terganggu karena hilangnya metabolit sel dan sitoplasma terpapar lingkungan luar yang mengakibatkan sel menjadi lisis<sup>14</sup>

## 8.6 Kesimpulan

1. Ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* mempunyai efektivitas daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Berdasarkan klasifikasi zona hambat, ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp* mulai menghambat pertumbuhan bakteri

*Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% dengan respon daya hambat sedang.

3. Berdasarkan klasifikasi zona hambat, ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima Spp* paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% dengan respon daya hambat kuat.



## DAFTAR PUSTAKA

---

1. Widoyono W. Infeksi Bakteri. Penyakit Trop Epidemiol Penularan, Pencegah dan Pemberantasannya. 2015;63–8.
2. Nanda S De, Maulina. Perilaku Pencegahan Penyakit Demam Tifoid Pada Mahasiswa. J Ilm Mhs Fak Keperawatan. 2016;1(1):1–5.
3. Wibisono E, Susilo A, Nainggolan L, Town W, Tigray E, Surtiastuti, et al. Buku Ajar Parasitologi Kedokteran. Maj Kedokt Indones. 2014;
4. dkk. Aru W. Sudoyo. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi VI. Ilmu Penyakit Dalam. 2014.
5. Depkes RI. Riset Kesehatan Dasar (National Health Survey). Minist Heal Repub Indones. 2013;
6. Depkes RI. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2011. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2011.
7. Manullang JE, Tarigan P, Sinatra J. Karakteristik Penderita Demam Tifoid Rawat Inap di RSUD dr. Pirngadi Kota Medan periode 2016. J Kedokt Methodist. 2017;10(2):145–8.
8. Carroll KC, Hobden JA. Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 2016.
9. Soedarmo SSP, Garna H, Hadinegoro SRS, Satari HI. Buku ajar infeksi & pediatri tropis. IDAI. 2010.
10. Wilar R, Kumalasari E, Suryanto DY, Gunawan S. Faktor Risiko Sepsis Awitan Dini. Sari Pediatr. 2016;12(4):265.
11. Negara KS. Analisis Implementasi Kebijakan Penggunaan Antibiotika Rasional Untuk Mencegah Resistensi Antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar: Studi Kasus Infeksi Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus. J Adm Rumah Sakit Indones. 2014;1(1):42–50.
12. Suryani L. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah ( Lumbricus sp ) terhadap Berbagai Bakteri Patogen secara Invitro The Antibacterial Activity of Earthworm ( Lumbricus sp ) Extract against Several Pathogen

- Bacteria In vitro. *Mutiara Med.* 2015;10(1):16–21.
13. Anwar EK. Efektivitas Cacing Tanah *Pheretima hupiensis*, *Edrellus* sp. dan *Lumbricus* sp. dalam Proses Dekomposisi Bahan Organik. *J Trop Soils.* 2013;
  14. Damayanti E, Istiqomah L, Julendra H, Istika D, Biologi J, Maret US. Inhibitory Effect of Extract Granule of Earthworms (*Lumbricus rubellus*) on the Pathogenic Bacteria In Vitro. *J Sain Vet.* 2014;32(1):93–104.
  15. Radji D. DRM. Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. 2016.
  16. Todar K. Online Textbook of Bacteriology. Bacterial Endotoxin. 2011.
  17. Retnosari S, Tumbelaka AR. Pendekatan Diagnostik Serologik dan Pelacak Antigen *Salmonella typhi*. *Sari Pediatr.* 2016;
  18. Palungkun R. Ternak Cacing Tanah *Lumbricus Rubellus*. Jakarta : Penerbit Swadaya. 2015;3–21.
  19. Warsa U 2010. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2010;
  20. Dirjen POM RI. Farmakope Indonesia edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009.