

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN INFUSUM CACING TANAH (*LUMBRICUS RUBELLUS*) DENGAN TAMBAHAN KITOSAN UDANG PADA *SALMONELLA THYPI*

Yani Suryani\*, Listia Wati Sophia, Tri Cahyanto, dan Ida Kinasih

### Abstrak

Pemanfaatan senyawa lumbricin dan bioaktif lainnya dari cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) untuk obat tradisional, memiliki keterbatasan yaitu mudah mengalami kerusakan yang disebabkan oleh pemanasan, pengolahan dan pada saat penyimpanan. Untuk itu diperlukan bahan pendukung agar senyawa bioaktif (lumbricin) yang terkandung dalam cacing tanah (*L. rubellus*) yaitu dengan menggunakan kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tambahan kitosan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak cacing tanah pada *S. thypi* dengan melakukan pengujian antibakteri dilakukan dengan metode sumur (difusi agar), serta juga dilakukan uji antioksidan dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Hasil penelitian ini yaitu konsentrasi optimum pemberian kitosan pada infusum cacing tanah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi* adalah 1% dengan diameter zona hambat sebesar 1,09 mm. perlakuan kombinasi kitosan dengan infusum cacing tanah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC50 antara 31,51 – 93,44 ppm.

**Kata-kata kunci:** Antibakteri, Antioksidan, Infusum *Lumbricus rubellus*, *Salmonella sp.*, Kitosan

### Pendahuluan

Infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella thypi* disebut dengan salmonellosis, yang dapat menyebabkan penyakit thypus, bahkan dengan jumlah sedikit bakteri ini dapat menyebabkan suatu infeksi. *S. thypi* sangat berbahaya, jika infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini tidak tertangani dengan baik

maka dapat mengakibatkan kematian.

Salah satu obat tradisional untuk penyakit thypus dengan menggunakan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*).

Beberapa negara memanfaatkan cacing tanah (*L. rubellus*) salah satunya Indonesia, khususnya di daerah Jawa Barat. Cacing tanah memiliki aktifitas antimikroba karena menghasilkan zat pengendali bakteri yang bernama

lumbricin [1]. Lumbricin merupakan senyawa peptida yang disusun oleh asam amino yang lengkap terutama prolin, dan secara *in vitro* mampu menghambat bakteri gram negatif, bakteri gram positif dan beberapa fungi, seperti *Eschericia coli*, *Salmonella*, *Staphylacoccus aureus* dan *Streptococcus aureus* [2]. Senyawa lumbricin dan senyawa bioaktif lainnya yang terdapat pada cacing tanah (*L. rubellus*) mudah rusak yang disebabkan oleh pemanasan, serta pengolahan dan pada saat penyimpanan. Untuk itu diperlukan bahan pendukung agar senyawa bioaktif (lumbricin) yang terkandung dalam cacing tanah (*L. rubellus*) diharapkan dapat digunakan secara maksimal walaupun telah melalui beberapa proses pemanasan dalam pengemasannya. Salah satu bahan yang dapat digunakan untuk mendukung aktivitas antibakteri adalah kitosan [3].

Banyak penelitian tentang aktivitas antimikroba kitosan pada berbagai jenis bakteri. Hasil penelitian tersebut antara lain kitosan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan konsentrasi 0,2% [4], konsentrasi minimum kitosan dalam menghambat bakteri dan ragi adalah 0,01-5,0 % [5]. Keuntungan dalam penambahan kitosan selain dapat mendukung aktivitas antimikroba adalah dapat mendukung senyawa bioaktif (lumbricin) yang terkandung dalam cacing tanah (*L. rubellus*) sebagai antioksidan [3]. Air rebusan cacing tanah (*L. rubellus*) memiliki daya hambat terhadap *E. coli* pada konsentrasi 20% [1], sedangkan pada penelitian tentang aktivitas antibakteri retensi protein tepung cacing tanah (*L. rubellus*) dengan tambahan kitosan sebagai pakan imbuhan ternak pada *E. coli* mendapatkan daya hambat sebesar 0,5% [3]. Namun pengujian antibakteri dan antioksidan ekstrak cacing tanah (*L.*

*rubellus*) terhadap bakteri lain belum pernah dilakukan penelitian sebelumnya, padahal bakteri lain seperti *S. thypi* berbahaya bagi tubuh. Berdasarkan informasi di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mengetahui konsentrasi optimum penambahan kitosan pada Infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dalam menghambat pertumbuhan *S. thypi*, serta untuk mengetahui pengaruh penambahan kitosan terhadap aktivitas antioksidan cacing tanah (*L. rubellus*).

## Metodologi Penelitian

### *Lokasi dan Waktu Penelitian*

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung, Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Gunung Batu Cimindi, Bandung dan Laboratorium Kimia Anorganik Universitas Padjajaran Bandung. Waktu penelitian

dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2014.

### *Alat dan Bahan Penelitian*

Alat-alat yang digunakan antara lain neraca analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, termometer, statif, blender, kertas saring, gelas kimia, alumunium foil, labu erlenmayer, cawan petri, inkubator, bunsen spirtus, jarum inokulasi (jarum ose dan jarum tanam tajam), lidi kapas steril, tabung pembolong, mikropipet, mikrometer, inkubator, spektrofotometer UV-Vis. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cacing tanah (*L. rubellus*) dari perkebunan daerah Cianjur, bakteri *Salmonella* sp dari Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Gunung Batu Cimindi Bandung, media SS (*Salmonella Shigella*), etanol 96%, aquadest steril, NaOH 4%, NaOH 20%, asam asetat 1%, HCL 2M, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,36 N, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O

1,175 %, NaCl 0,9%, dan Larutan DPPH.

#### *Rancangan Penelitian*

Penelitian ini dilakukan dengan dua kali pengujian yaitu pengujian antibakteri terhadap bakteri *S. thypi* dan pengujian antioksidan. Pada pengujian antibakteri dengan enam perlakuan dengan berbagai macam konsentrasi yaitu 20% cacing tanah + 0,5% kitosan, 20% cacing tanah + 1% kitosan, 20% cacing tanah + 1,5% kitosan, dan 20% cacing tanah + 2% kitosan, kontrol positif menggunakan 20% infusum cacing tanah tanpa tambahan kitosan, kontrol negatif menggunakan kitosan 1,5% dan amoxicilin 50% sebagai perbandingan perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp pada media Salmonela Shigella Agar yang diberi perlakuan dengan masing-

masing konsentrasi infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dengan tambahan kitosan. Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan penggaris 30 cm.

#### *Prosedur dan Teknik Penelitian*

##### Preparasi Sampel

Pada proses preparasi sampel cacing, diambil berat sebesar 41,6 gram, dimana berat 83,2 gram ini berisi sebelas ekor cacing dengan panjang rata-rata 12,36 cm, panjang maksimum cacing yang digunakan sebesar 25 cm sedangkan panjang cacing minimum yang digunakan sebesar 15 cm (Tabel 1), cacing inilah yang akan digunakan untuk pembuatan infusum cacing tanah.

Tabel 1. Panjang Cacing Tanah (*L. rubellus*)

NO	Panjang Cacing (cm)
1	24
2	25
3	15,5
4	21,5
5	15
6	18
7	15
8	22

---

9	16
10	15
11	15
Rata-Rata	12,36

---

### Pembuatan Kitosan

Cara membuat kitosan sebagai berikut: limbah cangkang udang sebanyak 100 g dibersihkan dengan air mengalir, lalu dihancurkan hingga menjadi serbuk. Serbuk limbah cangkang udang direndam dalam larutan NaOH 4% 100 mL, kemudian campuran tersebut dipanaskan pada suhu 70°C selama 2 jam sambil dilakukan pengadukan. Selanjutnya disaring dan dibilas dengan aquadest hingga pH netral. Proses selanjutnya adalah demineralisasi dengan cara serbuk direndam pada larutan HCL 2 M dengan perbandingan 1:10 (gr serbuk /ml HCl) pada suhu 25-30 °C sambil diaduk secara konstan selama 2 jam, setelah itu disaring dan endapan yang diperoleh dicuci dengan aquadest sampai pH netral lalu dikeringkan.

Endapan yang terbentuk tersebut adalah kitin.

Kitin dimasukan ke dalam larutan NaOH dengan konsentrasi 20% pada suhu 90-100 °C sambil diaduk secara konstan selama 60 menit, setelah itu disaring dan di cuci oleh aquadest dan dikeringkan. Hasil yang diperoleh disebut dengan kitosan. Konsentrasi yang digunakan adalah 0,5%, 1%, 1,5%, 2% dengan menggunakan pelarut asam asetat 1% [6] [7].

### Pembuatan Infusum Cacing Tanah (*L. rubellus*)

Cacing tanah sebanyak ±83,2 g dibersihkan dari kotorannya dengan cara dicuci dengan air dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah itu cacing tanah direbus dengan 104 ml aquadest pada suhu 72°C selama 15 detik [1].

### Pembuatan Media Salmonella Shigella Agar

Pembuatan media diawali dengan penimbangan media bubuk dan penambahan aquades seperti petunjuk pada kemasan. Kemudian dilakukan pengadukan sambil dipanaskan menggunakan *hot plate magnetic stirrer* hingga larutan media homogen yang ditandai oleh warna larutan yang jernih. Selanjutnya Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### Pembuatan Biakan *Salmonella* sp

##### 1. Pembuatan Stok Kultur

Mengambil satu koloni biakan murni *Salmonella* sp dengan menggunakan jarum ose steril lalu digoreskan secara aseptis pada media padat agar miring dan tabung media ditutup dengan kapas. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18- 24 jam.

##### 2. Penyiapan Inokulasi

Pembuatan Larutan standar Mc Farland: larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan

BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,175% sebanyak 0,5 ml dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji, kekeruhan larutan Mc Farland sama dengan  $\times 10^8$  sel bakteri.

Pembuatan Suspensi Bakteri: bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland [8].

#### Uji Antibakteri

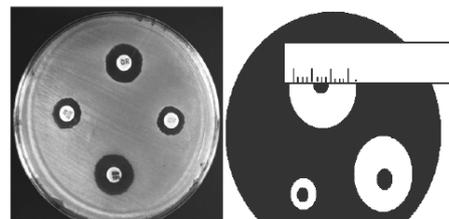
Metode sumur (difusi agar) didasarkan pada kemampuan senyawa-senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan jari-jari zona penghambatan di sekeliling sumur uji terhadap bakteri yang digunakan sebagai penguji. Setelah sterilisasi, media tuangkan kedalam cawan petri,

kurang lebih sebanyak 14 ml, kemudian media dibiarkan dingin dan membeku, kemudian suspensi bakteri diinokulasikan pada seluruh permukaan media dengan cara swab menggunakan lidi kapas steril.

Media pertumbuhan yang digunakan adalah media SS agar, dimana media ini merupakan media selektif untuk pertumbuhan *Salmonella*. Media yang telah diinokulasi kultur bakteri uji tersebut dibuat tiga lubang (sumur) secara aseptis dengan menggunakan tabung pembolong media dan dimasukkan larutan kombinasi infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dan kitosan dengan konsentrasi yang berbeda, yang telah dibuat sebelumnya dengan menggunakan mikropipet. Larutan kombinasi infusum cacing tanah (*L. rubellus*) yang dimasukan ke dalam sumuran sebanyak  $\pm 2$  mikron.

#### Pengukuran Daya Hambat

Zona penghambatan senyawa antibakteri dari larutan kombinasi infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dengan tambahan kitosan diukur berdasarkan diameter penghambatan berupa area bening di sekeliling sumur uji. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan mikrometer kemudian dikurangi oleh diameter dari sumur. Sehingga akan dihasilkan diameter dari zona hambat.



Zona hambat (zona bening) = diameter  
zona hambat – diameter sumur

Gambar 1. Pengukuran Diameter Zona Hambat Antibakteri

Uji Antioksidan dengan Metode DPPH  
(2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Sebanyak 1 ml larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di tambahkan larutan DPPH 0,0004 M sebanyak 1 ml. Larutan dikocok sampai homogen dan dibiarkan selama 30 menit. Kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Nilai persentase inhibisi yang diwakili oleh nilai IC50 dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Persen inhibisi =

$$\frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi ekstrak}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Dari nilai persen inhibisi sebagai absis (x) dan konsentrasi ekstrak sebagai ordinat (y) maka dengan metode LR (linear regression) diperoleh persamaan garis dan ditentukan konsentrasi saat persen inhibisi 50% (IC50) [9].

#### *Analisis Data*

Untuk melihat perbedaan pengaruh antibakteri setiap ekstrak uji maka data dianalisis dengan ANOVA (Analysis Of Variance) menggunakan Software SSPS. Apabila terbukti berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Duncan.

### **Hasil dan diskusi**

#### *Uji Pengaruh Antibakteri*

Uji pendahuluan terlebih dahulu dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat yang optimum infusum cacing tanah (*L. rubellus*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. thypi*, konsentrasi 5 % sampai 40 %, menunjukkan terdapatnya zona hambat dan diameter paling besar yaitu pada konsentrasi 20%.

Tabel 2. Uji diameter zona hambat infusum cacing tanah (*L. rubellus*) terhadap pertumbuhan *S. thypi*

NO	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)
1	5 %	0
2	10 %	0
3	15 %	0,56
4	20 %	0,71

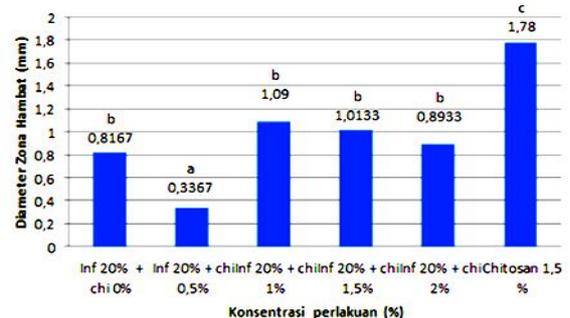
6	25 %	0
7	30 %	0
8	35 %	0,59
9	40 %	0

Ket : Hasil diatas telah dikurangi dengan diameter lubang sebesar 0,71mm

Adanya diameter zona hambat pada infusum cacing tanah (*L. rubellus*) disebabkan karena adanya aktifitas antimikroba terhadap pertumbuhan *S. thypi*, kemampuan menghambat pertumbuhan *S. thypi* karena infusum cacing tanah (*L. rubellus*) diduga memiliki senyawa antimikroba yaitu Lumbricin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif, selain itu adapun senyawa aktif yang lain seperti enzim, asam amino dan glikoprotein yang berkhasiat dalam pengobatan [1].

Gambar 2 menunjukkan penambahan kitosan pada infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dapat mempengaruhi aktifitas antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi*. Diameter

zona hambat bakteri yang terbentuk tidak selalu mengalami peningkatan dalam setiap perlakuan. Selain itu penambahan kitosan yang berlebih dapat menghambat kinerja dari senyawa antimikroba karena tingkat kepekatan larutan yang mengandung infusum dan kitosan. Keadaan kitosan yang berlebih akan menghambat masuknya senyawa aktif antimikroba ke dalam sel bakteri [3].



Ket : Notasi yang ditunjukkan dengan huruf (a,b,c) yang terdapat pada setiap rata-rata diameter menunjukkan bahwa pada penelitian ini berbeda nyata antara satu konsentrasi dengan konsentrasi yang lain.

Gambar 2. Rerata Diameter Zona Hambat Infusum Cacing Tanah dengan Tambahan Kitosan pada *S. thypi*

Konsentrasi optimum pemberian kitosan pada infusum cacing tanah (*L. rubellus*) adalah 1% (Gambar 2). Selain itu pola zona hambat yang terbentuk adalah menurun seiring dengan kenaikan konsentrasi kitosan.

Pada larutan kombinasi kitosan 1% terjadi penghambatan sebesar 1,09 mm. Diameter zona hambat mengalami kenaikan, hal tersebut diduga karena kekentalan larutan kitosan masih rendah sehingga masih dapat berdifusi ke media agar tempat tumbuhnya *S. thypi* dan membantu kinerja lumbricin dalam menghambat pertumbuhan *S. thypi*. Pada larutan kombinasi kitosan 1,5% terbentuk zona hambat sebesar 1,0133 mm, diameter zona hambat terjadi penurunan diduga karena larutan kitosan sudah terlalu kental sehingga tidak dapat berdifusi secara baik ke dalam media agar, namun jika dibandingkan dengan diameter zona hambat yang terbentuk dengan konsentrasi kitosan 0%, diameter zona

hambat kombinasi kitosan 1,5% memiliki zona hambat yang lebih besar, hal tersebut disebabkan oleh aktifitas antibakteri pada kitosan membantu senyawa aktif lumbricin dalam menghambat pertumbuhan *S. thypi*.

Pada larutan kombinasi kitosan 2% terjadi penghambatan sebesar 0,8933 mm, hal tersebut terjadi dikarenakan kekentalan kitosan semakin tinggi sehingga menyebabkan larutan tidak berdifusi secara sempurna ke dalam media agar. Namun jika dibandingkan dengan larutan kombinasi kitosan 0% diameter zona hambat kombinasi larutan 2% lebih besar dibandingkan dengan larutan kombinasi kitosan 0%, hal ini terjadi karena aktifitas antimikroba senyawa lumbricin pada infusum dibantu oleh kitosan dalam menghambat pertumbuhan *S. thypi*.

Kitosan memiliki sifat pelindung dan pendukung aktivitas antimikroba, sehingga senyawa bioaktif (lumbricin)

yang terdapat di cacing tanah (*L. rubellus*) dapat dimanfaatkan secara maksimal [3]. Namun pada kenyataannya zona hambat yang terbentuk memiliki pola menurun, hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya, pada pengujian ini dengan menggunakan metode sumuran, peningkatan konsentrasi kitosan tidak selalu menunjukkan kenaikan zona hambat. Pengujian dengan metode difusi (sumuran), diharapkan akan berdifusi ke media tumbuh bakteri, konsentrasi kitosan yang tinggi akan menghasilkan larutan yang terlalu kental sehingga larutan akan sulit berdifusi dibandingkan dengan larutan yang lebih encer [4]. Akibatnya, data diameter zona hambat yang terbentuk tidak selalu meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi kitosan.

Pada penelitian ini digunakan antibiotik amoxicilin sebagai pembanding. Amoxicilin digunakan sebagai pembanding karena amoxicilin

adalah senyawa penisilin semisintetik dengan aktivitas antibakteri bersifat bakterisida dan amoxicilin merupakan antibiotik berspektrum luas, sehingga amoxicilin sering digunakan sebagai pembanding dalam berbagai penelitian uji aktivitas antibakteri. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh amoxicilin 5% sebesar 4,73 mm.

Diameter zona hambat larutan kombinasi infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dengan tambahan kitosan lebih kecil dibandingkan dengan diameter zona hambat amoxicilin sebagai pembanding, namun larutan kombinasi ini di anggap berpotensi sebagai antibakteri, karena larutan kombinasi infusum dengan kitosan memberikan zona hambat.

Pada pengujian pengaruh pemberian kitosan pada infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dalam menghambat *S. thypi* konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi penambahan kitosan 0,5 %

dengan diameter zona hambat sebesar 0,34 mm, konsentrasi hambat optimum pada konsentrasi 1% dengan diameter zona hambat sebesar 1,09 mm, dengan demikian penambahan kitosan pada konsentrasi 0,5 % sudah dapat membantu infusum cacing tanah (*L. rubellus*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Namun jika dibandingkan dengan pembanding yang digunakan yaitu amoxicilin 5%, konsentrasi penambahan kitosan yang dilakukan tidak sebanding dengan diameter zona hambat pada 5% amoxicilin, hal ini diduga disebabkan karena penggunaan konsentrasi amoxicilin terlalu besar jika dibandingkan dengan konsentrasi larutan kombinasi yang digunakan.

*Analisis Pengaruh Kitosan terhadap Aktivitas Antibakteri Infusum Cacing Tanah (L. rubellus) pada Bakteri S. thypi*

Analisis ANOVA menunjukkan hasil pengujian pengaruh pemberian kitosan pada infusum cacing tanah terhadap pertumbuhan *S. thypi* berbeda secara signifikan antara satu konsentrasi dengan konsentrasi yang lainnya (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh Kitosan terhadap Aktivitas Antibakteri Infusum Cacing Tanah (*L. Rubellus*) pada Bakteri *S. Thypi*

NO	Konsentrasi	Rata-rata Diameter
1	I 20 % + CHI 0 %	0,8167 <sup>b</sup>
2	I 20 % + CHI 0,5 %	0,3367 <sup>a</sup>
3	I 20 % + CHI 1 %	1,0900 <sup>b</sup>
4	I 20 % + CHI 1,5 %	1,0133 <sup>b</sup>
5	I 20 % + CHI 2 %	0,8933 <sup>b</sup>
6	CHI 1,5 %	1,7800 <sup>c</sup>

Ket : Notasi yang berbeda yang ditunjukkan dengan huruf (a,b,c) di belakang angka menunjukkan hasil berbeda nyata

*Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan kitosan dalam membantu senyawa aktif yang terkandung dalam cacing tanah (*L. rubellus*). Metode DPPH merupakan salah satu uji kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas kombinasi kitosan dan infusum cacing tanah (*L. rubellus*) sebagai antioksidan.

Untuk mengetahui tingkat perendaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH, maka pengukuran reaksi warna dilakukan pada konsentrasi larutan uji yang berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin besar pula peredamannya yang ditandai dengan hilangnya warna ungu menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi yang tinggi senyawa yang terkandung akan semakin

besar dan menyebabkan semakin besar pula aktivitas antioksidannya.

Aktivitas antioksidan yang diperoleh adalah persentase penghambatan (% inhibisi) dan nilai IC<sub>50</sub>, nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan persamaan regresi linier. Persentase penghambatan menandakan kemampuan suatu bahan dalam menghambat aktivitas radikal bebas, yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan [7].

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Infusum Cacing Tanah (*L. rubellus*) dengan Tambahan Kitosan

Sampel	Persentase Penghambatan ( % inhibisi)					IC <sub>50</sub> (ppm)
	10 ppm	30 ppm	50 ppm	70 ppm	90 ppm	
INF 20 % + CHI 0%	2,48	8,53	11,95	20,10	30,84	153,34
INF 20 % + CHI 0,5 %	19,52	31,52	38,48	40,43	48,16	93,44
INF 20 % + CHI 1 %	12,33	27,48	33,67	42,07	52,12	81,81
INF 20 % + CHI 1,5 %	20,32	33,42	34,27	42,12	58,2	79,26
INF 20 % + CHI	33,24	34,09	43,52	49,11	55,18	73,99

2 %						
CHI 1,5 %	39.46	52.44	58.21	63.12	71.2	31.51

Hasil pengujian antioksidan pada Tabel 4 menunjukkan kemampuan menghambat radikal bebas terendah pada konsentrasi 10 ppm, yaitu 2,48 % untuk larutan kombinasi kitosan 0 %, 19,52 % untuk larutan kombinasi kitosan 0,5 %, 12,33% untuk larutan kombinasi 1 %, 20,32 % untuk larutan kombinasi 1,5 %, 33,24 % untuk larutan kombinasi 2 % dan 39,46 % untuk larutan tunggal kitosan 1,5 % tanpa kombinasi dengan infusum cacing tanah (*L. rubellus*). Sedangkan kemampuan menghambat radikal bebas tertinggi terdapat pada konsentrasi 90 ppm, yaitu 30,84 % untuk larutan kombinasi kitosan 0 %, 48,16 % untuk larutan kombinasi kitosan 0,5 %, 52,12 % untuk larutan kombinasi kitosan 1 %, 58,2 % untuk larutan kombinasi kitosan 1,5 %, 55,18 % untuk larutan kombinasi kitosan 2 % dan 48, 16 % untuk larutan

tunggal kitosan 1,5 % tanpa kombinasi infusum cacing tanah (*L. rubellus*).

Semakin tingginya konsentrasi larutan kombinasi kitosan dan infusum cacing tanah (*L. rubellus*) yang digunakan menghasilkan persentase penghambatan radikal bebas yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan penelitian lainnya dimana persentase penghambatan terhadap aktifitas radikal bebas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak [7].

Pada konsentrasi yang sama yaitu 10, 30, 50, 70, dan 90 ppm terjadi kenaikan dan penurunan persentase penghambatan radikal bebas (% inhibisi) hal tersebut diduga karena perbedaan konsentrasi kitosan pada larutan kombinasi infusum dengan kitosan, sehingga menyebabkan perbedaan mekanisme penghambatan radikal bebas pada setiap larutan kombinasi kitosan dan infusum cacing tanah (*L. rubellus*). Namun jika dilihat

dari kenaikan konsentrasi pada setiap larutan kombinasi kitosan dengan infusum, persentase penghambatan radikal bebas mengalami kenaikan terus menerus seiring dengan kenaikan konsentrasi pada setiap larutan kombinasi.

Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50%. Nilai IC<sub>50</sub> berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan bahwa semakin besar kemampuan antioksidannya [7].

Dari nilai IC<sub>50</sub> pada masing-masing kombinasi kitosan dan infusum cacing tanah (*L. rubellus*), diketahui bahwa nilai IC<sub>50</sub> terendah diperoleh pada kombinasi infusum 20% dan kitosan 2%, yaitu sebesar 73,99 ppm, diikuti dengan kombinasi infusum 20% dan kitosan

1,5% sebesar 79,26 ppm, kombinasi infusum 20% dan kitosan 1% sebesar 81,81 ppm, kombinasi infusum 20% dan kitosan 0,5% sebesar 93,44 ppm, dan kombinasi infusum 20% dan kitosan 0% sebesar 153,34 ppm.

Hal ini dikarenakan elektron pada DPPH menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron yang diambil. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan, jika senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning [10].

Namun jika dibandingkan dengan pembanding yaitu kitosan 1,5%, aktivitas antioksidan kombinasi kitosan dengan infusum lebih rendah di bandingkan dengan pembanding, dari gambar 4.5 terlihat bahwa kitosan

terbukti dapat membantu senyawa aktif pada cacing tanah (*L. rubellus*) pada aktivitas antioksidan, sedangkan pada aktifitas antimikroba, kitosan dapat membantu senyawa aktif lumbricin pada konsentrasi tertentu.

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> 50–100 ppm, antioksidan sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> 100–150 ppm, dan antioksidan lemah bila nilai IC<sub>50</sub> antara 150–200 ppm [10]. Berdasarkan Tabel 4, perlakuan kombinasi kitosan dengan infusum cacing tanah (*L. rubellus*) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> antara 31,51 – 93,44 ppm.

### **Kesimpulan**

Konsentrasi optimum pemberian kitosan pada infusum cacing tanah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi* adalah 1% dengan

diameter zona hambat sebesar 1,09 mm. Pemberian kitosan pada infusum cacing tanah (*L. rubellus*) akan meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan seiring dengan penambahan konsentrasi kitosan. Adapun saran dari penelitian ini yaitu perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penentuan jenis zat aktif yang benar-benar efektif dan reaksi yang terjadi sebagai antibakteri dan antioksidan, perlu dilakukan penambahan data untuk pengujian antioksidan dengan metode DPPH agar diperoleh hasil yang lebih akurat, selain itu perlu dilakukan pengujian toksisitas terhadap bahan kombinasi infusum cacing tanah dan kitosan

### **Referensi**

- [1] Indriati, Gustina., Mimit Sumitri., Rina Widiana, “Pengaruh Air Rebusan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*”, Jurnal Prosiding Semirata BKS PTN-B MIPA 2012. ISBN 978-602-9115-20-8

- [2] Popović, M., M. Grdiša And T.M. Hrženjak, "Glycolipoprotein G-90 obtained from the earthworm *Eisenia foetida* exerts antibacterial activity", *Vet. Arhiv.* 75: 119-128 (2005)
- [3] Sofyan A., E. Damayanti dan H. Julendra, "Aktivitas Antibakteri dan Retansi Protein Tepun Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) sebagai Pakan Imbuhan dengan Taraf Penambahan Kitosan", *Jurnal JITV.* Vol.13, No.3 (2008)
- [4] Nurainy, Fibr., Samsul Rizal dan Yudiantoro, "Pengaruh Konsentrasi Kitosan Terhadap Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Agar (Sumur)", *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian.* Vol.13, No.2 (2008)
- [5] Herliani A, Leni. "Eknologi Pengawetan Pangan. Penerbit Alfabeta. Bandung, 2008
- [6] Tammi, Turmuzi., Ni Made Suaniti dan Manuntun Manurung, "Ariasi Konsentrasi dan pH Terhadap Kemampuan Kitosan Dalam Mengadsorpsi Metilen Biru", *Jurnal Kimia* No. 7(1), Hal 11-18 (2013)
- [7] Andriyanti, Rizki. "Ekstraksi Senyawa Aktif Antioksidan dari Lintah Laut (*Discodoris* sp) Asal Perairan Kepulauan Belitung", *Skripsi Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan ITB, Bogor,* 2009
- [8] Mpila, Deby A., Fatimawali, Weny I. Wiyono, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* secara *IN-VITRO*" *Jurnal Farmasi, Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT, Manado* (2012)
- [9] Rasyid, A, "Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus hermannii*", *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol. 4, No. 2, Hlm. 360-368 (2012)
- [10] Molyneux, P., "The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity" *J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219 (2004)
- Yani Suryani\*  
Department of Biology, Faculty of Science and Technology

UIN Sunan Gunung Djati Bandung  
yan\_dikha@yahoo.com

Listia Wati Sophia  
Department of Biology, Faculty of  
Science and Technology  
listiawatys\_22@yahoo.co.id

Tri Cahyanto  
Department of Biology, Faculty of  
Science and Technology  
UIN Sunan Gunung Djati Bandung  
cahaya\_trimau@yahoo.com

Ida Kinasih  
Department of Biology, Faculty of  
Science and Technology  
UIN Sunan Gunung Djati Bandung  
idakinasih@uinsgd.ac.id

\*Corresponding author