

## **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 *Invitro**

**Lilis Suryani**

Bagian Mikrobiologi, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Email: lilis\_fkumy@yahoo.co.id

#### **Abstract**

*In the modern society now, the active compound of earthworm is used as medical materials. In fact, many cosmetic products utilize that active materials as softened skin substrate, facial moisturizer, and antiseptic. As herbal products, there has been a lot of branded tonic that used earthworms extracts as a mixture of active material. Earthworms have mechanic immunity against pathogen organism by producing extracellulair hyaline, granular amoebocytes and chloragocytes. Hyaline and granular amoebocytes have the ability to phagocyte, chloragocyte producing cytotoxic extracellulair and antibacterial substance. This research is an experimental laboratory to observe the effect of antibacterial earthworm (*Lumbricus* sp) against the pathogenic bacteria invitro. The antibacterial activity extract earthworm (*Lumbricus* sp) has been tested by the determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) using tube dilution method. The bacteria test used *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Shigella flexneri* wild strain. The results of this study shows that the MIC earthworm extract against *Staphylococcus aureus* is 4.17 g%, against *Streptococcus beta hemolyticus* is 12.5 gr%, against *Vibrio cholerae* is 16.7 gr% and *Shigella flexneri* is 2.08 gr%. It is concluded that earthworm (*Lumbricus* sp) extract possess an antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella flexneri* as bactericidal and against *Streptococcus beta hemolyticus* and *Vibrio cholerae* as bacteriostatic.*

*Key words: Antibacterial activity, Earthworm (*Lumbricus* sp.) extract, MIC, MBC*

#### **Abstrak**

Dalam dunia moderen sekarang ini, cacing tanah digunakan sebagai bahan obat. Bahkan, tak sedikit produk kosmetik yang memanfaatkan cacing tanah sebagai substrat pelembut kulit, pelembab wajah, dan antiinfeksi. Sebagai produk herbal, telah banyak merek tonikum yang menggunakan ekstrak cacing tanah sebagai campuran bahan aktif. Cacing tanah memiliki mekanisme imunitas terhadap organisme patogen dengan cara menghasilkan *hyaline*, *granular amoebocytes* dan *chloragocytes*. *Hyaline* dan *granular amoebocytes* punya kemampuan fagositosis, *chloragocytes* menghasilkan zat ekstraseluler yang sitotoksik dan antibakterial. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak cacing tanah (*Lumbricus* sp) terhadap bakteri patogen secara in vitro. Penentuan daya antimikroba ekstrak cacing tanah (*Lumbricus* sp) dengan metode pengenceran tabung (*tube dilution methode*) untuk melihat kadar hambatan minimal (KHM) dan kadar

bakterisidal minimal (KBM). Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemoliticus*, *Vibrio cholerae* dan *Shigella flexneri* strain lokal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa KHM ekstrak cacing tanah terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 4,17 gr%, terhadap *Streptococcus beta hemoliticus* sebesar 12,5 gr%, terhadap *Vibrio cholerae* sebesar 16,7 gr% dan terhadap *Shigella flexneri* sebesar 2,08 gr%. Disimpulkan bahwa ekstrak cacing tanah (*Lumbricus* sp) memiliki efek bakterisid terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*, sedangkan terhadap *Streptococcus beta hemoliticus* dan *Vibrio cholerae* bersifat bakteristatik

Kata kunci : Daya antibakteri, ekstrak cacing tanah, KHM, KBM.

## Pendahuluan

Cacing tanah bukan merupakan hewan yang asing bagi masyarakat kita, terutama bagi masyarakat pedesaan. Namun hewan ini mempunyai potensi yang sangat menakjubkan bagi kehidupan dan kesejahteraan manusia.

Di RRC, Korea, Vietnam, dan banyak tempat lain di Asia Tenggara, cacing tanah terutama dari jenis *Lumbricus* sp, digunakan sebagai obat sejak ribuan tahun yang lalu. Cacing tanah telah dicantumkan dalam "Ben Cao Gang Mu", buku bahan obat standar (farmakope) pengobatan tradisional Cina. Di Cina, cacing tanah akrab disebut 'naga tanah'. Nama pasaran cacing tanah kering di kalangan pedagang obat-obatan tradisional Cina adalah *ti lung kam*.<sup>1</sup>

Dalam dunia modern sekarang ini, senyawa aktif cacing tanah digunakan sebagai bahan obat. Bahkan, tak sedikit produk kosmetik yang memanfaatkan bahan aktif tersebut sebagai substrat pelembut kulit, pelembab wajah, dan antiinfeksi. Sebagai produk herbal, telah banyak merek tonikum yang menggunakan ekstrak cacing tanah sebagai campuran bahan aktif.<sup>2</sup>

Menurut Do Tat Loi dan Ba Hoang dari Vietnam, praktisi pengobatan konvensional dan pengobatan tradisional Cina, telah membuktikan efektivitas cacing tanah untuk mengobati pasien-pasiennya yang mengidap stroke, hipertensi, penyumbatan pembuluh darah (aterosklerosis), kejang ayan (epilepsi), dan berbagai penyakit infeksi. Resep-resepnya telah banyak

dijadikan obat paten untuk pengobatan alergi, radang usus, dan stroke.<sup>2</sup>

Cacing tanah memiliki mekanisme imunitas terhadap organisme patogen dengan cara menghasilkan hyalin, *granular amoebocytes* dan *chloragocytes*.<sup>3</sup> *Hyaline* dan *granular amoebocytes* mempunyai kemampuan dalam proses fagositosis, *chloragocytes* menghasilkan produk ekstraseluler yang bersifat sitotoksik dan antibakteri.<sup>4</sup>

Cacing tanah juga menghasilkan enzim *lysosomal* (lisozim) yang penting untuk melindungi dari serangan mikroba patogen.<sup>5,6</sup> Selain itu juga menghasilkan enzim fosfatase, glukoronidase, peroksidase dan beberapa enzim yang lain.

Sehubungan dengan adanya khasiat antibakteri yang terdapat di dalam tubuh cacing tanah (*Lumbricus* sp.) yang dapat membunuh bakteri, maka penting dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak cacing tanah (*Lumbricus* sp.) dalam menghambat pertumbuhan kuman patogen selain *E.coli* baik dari golongan bakteri gram positif maupun gram negatif. Bakteri gram positif yang sering menyebabkan infeksi di Indonesia diantaranya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus beta hemoliticus*. Kuman gram negatif patogen diantaranya *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* dan *Vibrio cholerae*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak cacing tanah dalam menghambat/membunuh kuman *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemoliticus*, *Shigella flexneri* dan *Vibrio cholerae*.

## Bahan dan Cara

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Medium agar *Mac Conkey*, *Nutrien agar*, Media agar darah, *Brain heart infusion* cair, Larutan NaCl fisiologis, Larutan aquades steril, Ekstrak cacing tanah .

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah cawan petri diameter 10 cm, tabung reaksi, rak tabung reaksi, lampu spiritus, ose, pipet ukur, *glassfirm*, erlemeyer, autoklaf Jericho JE-350A, oven Memmert, *laminar air flow* Nuare tipe II, inkubator Memmert, timbangan Sartorius BP 160P, *waterbath*, termometer, kapas, kain flanel, panci infus.

Adapun cara penelitian pembuatan ekstrak cacing tanah pada penelitian ini, cacing tanah yang masih hidup dicuci bersih dan dan dijemur di bawah sinar matahari selama beberapa hari, dikeringkan dengan mesin pengering sampai kering dan dibuat serbuk dengan cara digiling. <sup>7</sup> Cara pembuatan ekstrak cacing tanah dengan konsentrasi 50 gr% adalah dengan melarutkan 50 gr serbuk cacing tanah dengan aquades steril 100 ml. Disaring dengan menggunakan kain flanel, ditambahkan air secukupnya melalui ampas sehingga volume menjadi 100 ml kembali. <sup>8</sup> Pemeriksaan sterilitas ekstrak cacing tanah. Ekstrak cacing tanah yang diperoleh setelah disaring dengan filter bakteri diuji kesterilannya dengan cara ditetaskan sebanyak 5 ml larutan ekstrak kedalam 2 tabung pembenihan yang mengandung *brain heart infusion* cair. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika tidak terjadi kekeruhan pada tabung pembenihan maka ekstrak cacing tanah dinyatakan steril.

Penyiapan bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan berupa *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemoliticus*, *Shigella flexneri* dan *Vibrio cholerae* strain lokal. Masing-masing biakan bakteri disubkultur dalam lempeng agar darah (untuk kuman gram positif) dan *Mac Conkey* (untuk kuman gram negatif) selama 24 jam pada 37°C. Koloni yang tumbuh dipilih 4-5 koloni dengan menggunakan ose steril,

diinokulasikan pada 2 ml media cair BHI, lalu diinkubasikan pada 37°C selama 2-5 jam sampai pertumbuhan bakteri tampak. Kemudian dibuat suspensi bakteri dengan cara diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis steril sampai kekeruhan sama dengan suspensi larutan standar Brown III yang diidentikkan dengan konsentrasi kuman sebesar 10<sup>8</sup> CFU/ml. Selanjutnya kuman tersebut diencerkan lagi dengan medium cair BHI sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10<sup>6</sup> CFU/ml. <sup>9</sup>

Penentuan kadar hambatan minimal ekstrak cacing tanah dengan metode seri pengenceran tabung (*macro broth dilution*), yaitu : a). Disediakan 120 tabung volume 5 ml steril untuk 4 seri pengenceran dengan 3 kali pengulangan, dimana setiap seri pengenceran dalam satu ulangan menggunakan 10 buah tabung; b). Untuk setiap satu seri pengenceran disediakan 10 tabung, ke dalam tabung ke-2 sampai tabung ke-10 dimasukkan 1 ml aquades steril; c). Selanjutnya dimasukkan 1 ml larutan ekstrak cacing tanah ke dalam tabung ke-1 dan ke-2, sehingga tabung ke-1 berisi larutan ekstrak dengan konsentrasi 50 gr% dan tabung ke-2 berisi larutan ekstrak dengan konsentrasi 25 gram%; d). Kemudian dilakukan pengenceran secara seri dari tabung ke-2 sampai dengan tabung ke-10, dengan cara memindahkan 1 ml larutan ekstrak pada tabung ke-2 ke dalam tabung ke-3. tabung ke-3 digojog sampai homogen diambil 1 ml kemudian dipindahkan ke tabung nomor 4., demikian seterusnya sampai tabung ke-10 dipindahkan ke tabung ke-11. Dengan demikian tabung dari nomor 1. sampai dengan tabung ke-10 memiliki konsentrasi sebagai berikut: Tabung ke-1 50 gr%, ke-2 25 gr%, ke-3 12,5gr%, ke-4 6,25 gr%, ke-5 3,125 gr%, ke-6 1,563 gr%, ke-7 0,783 gr%, ke-8 0,391 gr%, ke-9 0,195 gr%, dan ke-10 0,098 gr%. Tabung ke-11 berisi sisa pengenceran sebagai kontrol sterilitas ekstrak cacing tanah (kontrol negatif); e). Ke dalam tabung ke-1 sampai tabung ke-10 selanjutnya diisi masing-masing 1 ml larutan *brain hearth infusion* cair yang berisi suspensi bakteri uji dengan konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU/ml. Volume akhir dari tabung ke-1 sampai tabung ke-10 sebesar

2 ml. Maka konsentrasi akhir dari ekstrak cacing tanah adalah sebagai berikut. Tabung ke-1 25 gr%, ke-2 12,5 gr%, ke-3 6,25 gr%, ke-4 3,125 gr%, ke-5 1,563 gr%, ke-6 0,781 gr%, ke-7 0,391 gr%, ke-8 0,195 gr%, ke-9 0,098 gr%, dan ke-10 0,049 gr%; f). Selanjutnya seluruh tabung dari nomor 1 sampai nomor 10 diinkubasikan pada suhu 37° C, selama 24 jam. Sebagai kontrol sterilitas bahan dan kontrol pertumbuhan kuman, juga ikut diinkubasikan tabung ke-11 dan tabung yang hanya berisi suspensi bakteri uji (kontrol positif); g). Diamati ada tidaknya pertumbuhan kuman dengan cara membandingkan kontrol positif; h). Kadar hambatan minimal diperoleh dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah; i). Selanjutnya tabung subkultur tersebut ditanam pada media nutrisi agar, diinkubasi pada 37° C, selama 24 jam untuk menentukan kadar bakterisidal minimal.

## Hasil

Dari penelitian yang meliputi penentuan kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal dari ekstrak cacing terhadap berbagai kuman patogen, sebagai upaya untuk mendapatkan obat antibakteri terhadap bakteri penyebab berbagai infeksi, diperoleh hasil sebagai berikut.

Hasil rata-rata kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal dari ekstrak cacing terhadap berbagai bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa aktivitas antibakteri ekstrak cacing tanah yang paling kuat adalah terhadap *Shigella*

*flexneri* sebesar 2,08 gr%, dan paling lemah terhadap *Vibrio cholerae* sebesar 16,7 gr%. Aktivitas antibakteri ekstrak cacing tanah terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri* bersifat bakterisid dan terhadap *Streptococcus beta hemolyticus* dan *Vibrio cholerae* bersifat bakteristatik.

## Diskusi

Penelitian ini membuktikan bahwa cacing tanah memiliki efek antibakteri terhadap bakteri patogen gram positif maupun gram negatif yang bersifat bakteristatik dan bakterisid. Adanya efek antibakteri pada cacing tanah disebabkan karena cacing tanah memiliki senyawa aktif antara lain golongan senyawa alkaloid.

Cacing tanah memiliki mekanisme imunitas terhadap organisme patogen dengan cara menghasilkan *hyalin*, *granular amoebocytes* dan *chloragocytes*.<sup>3</sup> *Hyalin* dan *granular amoebocytes* mempunyai kemampuan dalam proses fagositosis, *chloragocytes* menghasilkan produk ekstraseluler yang bersifat sitotoksik dan antibakterial.<sup>4</sup>

Cacing tanah juga menghasilkan enzim lisosomal (lisozim) yang penting untuk melindungi dari serangan mikroba patogen.<sup>5,6</sup> Selain itu juga menghasilkan enzim fosfatase, glukoronidase, peroksidase dan beberapa enzim yang lain.

Lisozim adalah suatu enzim proteolitik yang mempunyai aktivitas hidrolase dan transglukosidase. Peptidoglikan dinding sel bakteri merupakan substrat lisozim untuk aktivitasnya.<sup>10</sup> Lisozim merupakan protein atau polipeptida yang bersifat basa dengan titik isoelektrik pada pH 10,5-11. Susunan kimia lisozim adalah rangkaian 120-121

Tabel 1. Hasil Rerata KHM dan KBM dari Ekstrak Cacing Tanah terhadap Bakteri Uji

No	Bakteri Uji	KHM (gr %)	KBM (gr%)
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,17	25
2	<i>Streptococcus beta hemolyticus</i>	12,5	>25
3	<i>Vibrio cholerae</i>	16,7	>25
4	<i>Shigella flexneri</i>	2,08	16,7

asam amino dengan berat molekul berkisar 14.000. larut dalam air dan garam fisiologis. namun tidak larut dalam eter, klorofom maupun alkohol.

Lisozim tidak mempunyai koenzim atau ion-ion logam, katalisis, kespesifikan dan struktur tiga dimensi ditentukan oleh residu asam-asam amino. Selain itu mempunyai struktur lembaran melipat, alfa heliks kecil dan terdapat bagian yang disebut *random coil*. Molekulnya mempunyai celah sentral yang dalam, memberi tempat pada suatu sisi katalitik dengan 6 *subsites* yang berikatan dengan berbagai substrat atau inhibitor. Residu yang bertanggung jawab atas hidrolisis ikatan beta 1,4 asam asetil muramat pada peptidoglikan dinding sel bakteri, terletak antara *site D* dan *E*. Polisakarida dinding sel bakteri terdiri dari dua jenis gula, yaitu N-asetil muramat dan N-asetil glukosamin yang dihubungkan melalui ikatan glikosida beta (1,4) dan NAM tersusun selang-seling dengan NAG. Lisozim menghidrolisis hanya ikatan antara C1 (NAM) dan C4 (NAG).<sup>11</sup> Kandungan senyawa kimia cacing tanah sangat kompleks. Kadar protein cacing tanah sangat tinggi, yaitu 58 persen hingga 78 persen dari bobot keringnya (lebih tinggi daripada ikan dan daging) yang dihitung dari jumlah nitrogen yang terkandung di dalamnya. Selain itu, cacing tanah rendah lemak, yaitu hanya 3 persen hingga 10 persen dari bobot keringnya. Protein yang terkandung dalam cacing tanah mengandung asam amino esensial dan kualitasnya juga melebihi ikan dan daging.

Dari serangkaian pengujian kimia diketahui bahwa senyawa aktif sebagai antipiretik dari ekstrak cacing tanah adalah golongan senyawa alkaloid. Golongan senyawa alkaloid mempunyai ciri mengandung atom nitrogen (dibandingkan dengan struktur parasetamol yang juga memiliki atom nitrogen) dan bersifat basa (pH lebih dari 7). Contoh alkaloid yang paling terkenal adalah nikotin dari tembakau. Seperti umumnya senyawa aktif, jika dikonsumsi berlebihan, dapat menjadi racun juga. Golongan alkaloid memang sudah banyak ditemukan dari ekstrak tumbuhan maupun hewan dan

sebagian besar di antaranya memiliki efek farmakologis. Ekstrak tumbuhan yang dikenal dapat menurunkan gejala demam seperti kina juga mengandung alkaloid sebagai senyawa aktifnya. Adanya senyawa alkaloid yang aktif dari cacing tanah ini juga sesuai dengan kadar N yang sangat tinggi dari cacing tanah seperti disebut di atas.

## Kesimpulan

Ekstrak cacing tanah (*Lumbricus* sp.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* 4,17 gr%, *Streptococcus beta hemoliticus* 12,5 gr% *Vibrio cholerae* 16,7 gr%, dan *Shigella flexneri* 2,08 gr%.

Ekstrak cacing tanah memiliki efek antibakteri yang bersifat bakterisid terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*.

Ekstrak cacing tanah memiliki efek antibakteri yang bersifat bakteristatik terhadap *Streptococcus beta hemoliticus* dan *Vibrio cholerae*.

## Ucapan Terima kasih

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada LP3M UMY yang telah membiayai penelitian ini, juga laboran mikrobiologi saudara Jamhari yang telah banyak membantu penelitian ini.

## Daftar Pustaka

1. Anonim, 2000. Budidaya Cacing Tanah *Lumbricus*, Kantor Deputi Menristek, Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan IPTEK, <http://www.ristek.go.id>.
2. Anonim, 2005. Cacing tanah sebagai obat, [http://www.terusehat.com/kiatalami/cacing\\_tanah.shtml](http://www.terusehat.com/kiatalami/cacing_tanah.shtml).
3. Cooper E.L. 1996. Earthworm immunity. *Prog Mol Subcell Biol* 16:10–45
4. Dales R.P., Kalaç Y. 1992 Phagocytic defense by the earthworm *Eisenia foetida* against certain pathogenic bacteria. *Comp Biochem Physiol* 101A:487–490
5. Marks D.H., Stein E.A., Cooper E.L.

1981. Acid phosphatase changes associated with response to foreign tissue in the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Comp Biochem Physiol* 68A:681–683
6. Cikutovic M.A., Fitzpatrick L.C., Goven A.J., Venables B.J., Giggelman M.A., Cooper E.L. 1999. Wound healing in earthworms *Lumbricus terrestris*: a cellular-based biomarker for assessing sublethal chemical toxicity. *Bull Environ Contam Toxicol*. 62:508–514
  7. Departemen Kesehatan RI, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Direktorat Jenderal penelitian Obat dan Makanan, Jakarta.
  8. Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Depkes RI, Jakarta: 780-784.
  9. William.J dan Hansler. Jr. 1991. *Manual of Clinical Microbiology*, Fifth ed., american Society for microbiology. Washington: 1059-1063.
  10. Inoue,M., Okubo,T., Oshima,H., Mitsuhashi. 1980. Isolation and Characterization of Lysozyme sensitive mutant of *S aureus*. *J. Bacteriology*. 144(3). 1186-1189.
  11. Stryer,L. 1995. *Biochemistry* 4<sup>th</sup>ed. WH Freeman and Co, New York.
-