

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salmonella typhi adalah bakteri yang bersifat patogen pada manusia dan hewan. Organisme ini hampir selalu masuk melalui rute oral, biasanya bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi. Organisme tersebut memperbanyak diri di dalam usus dan menyebabkan demam tifoid.¹ Gejala dari penyakit ini berupa demam, nyeri kepala, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi atau diare, perasaan tidak enak di perut, batuk dan epistaksis.²

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2018, diperkirakan 11-20 juta orang menderita tifoid dan sekitar 128.000 sampai 161.000 orang meninggal setiap tahunnya di daerah berkembang di Afrika, Amerika, Asia Tenggara dan wilayah Pasifik Barat.³ Demam tifoid merupakan penyakit endemik di Indonesia. Penyakit ini mudah menular dan dapat menyerang banyak orang sehingga dapat menimbulkan wabah.² Menurut Kementerian Kesehatan RI tahun 2009, di Indonesia tercatat 80.850 kasus demam tifoid, dengan penderita laki-laki tercatat 39.262 kasus, perempuan sebanyak 41.588 kasus, dan pasien yang meninggal dunia sebanyak 1.013 kasus.⁴ Kelompok yang rentan menderita penyakit ini adalah anak-anak dan masyarakat golongan ekonomi lemah.³

Terapi lini pertama demam tifoid adalah golongan kloramfenikol, tiamfenikol, kotrimoksazol, ampisilin, sefalosporin generasi ketiga, flurokuinolon dan azitromisin.² Menurut *Public Health England* (PHE) tahun 2017, *Salmonella typhi* telah resisten terhadap antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga akibat adanya produksi CTX-M-15 ESBL.⁵ *Salmonella typhi* yang memproduksi *Extended-Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) dengan salah satu genotip *Cefotaximase-Munich* (CTX-M)15 memiliki tingkat hidrolisis yang kuat terhadap antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga. Tipe ini banyak ditemukan pada *Salmonella enteric serovar Typhimurium* dan *E.coli*.⁶ Selain itu resistensi

antibiotik terjadi karena penggunaan yang meluas dan tidak rasional, beberapa faktor yang mendukung terjadinya resistensi adalah penggunaan yang terlalu singkat, dosis yang terlalu rendah, diagnosis awal yang salah dan indikasi yang kurang tepat, misalnya infeksi virus.^{7,8}

Untuk mengatasi hal tersebut maka perlu dicari alternatif pengobatan untuk berbagai penyakit infeksi ini. Pengobatan secara tradisional dianggap lebih aman dan bebas pengaruh kimiawi. Salah satu bahan tradisional yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit tifus adalah cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). Penggunaan obat tradisional semakin disukai masyarakat karena harganya yang murah dan mudah diperoleh.⁹

Cairan selom pada cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mengandung lebih dari 40 protein.¹⁰ Protein yang dimiliki oleh cacing tanah memiliki mekanisme antimikroba yang dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif, protein tersebut adalah *lumbricin-1*.¹¹ Selain *lumbricin-1*, cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mengandung enzim protease fibrinololitik (lumbrokinase) yang dapat digunakan untuk memperlancar aliran darah ke otak pada pasien stroke iskemik.¹² Saat ini penelitian tentang cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) sebagai obat tradisional telah banyak dikembangkan. Beberapa penelitian membuktikan bahwa cacing tanah memiliki aktivitas biologis seperti sitolitik, proteolitik, antibakteri, hemolitik, hemaglutinasi, trombolitik dan kegiatan mitogenik.⁹ Penelitian lainnya mencatat bahwa hasil ekstraksi cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.¹³

Protein yang dimiliki cacing tanah membuat pori di dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan sitoplasma sel bakteri menjadi terpapar dengan lingkungan luar yang dapat mengganggu aktivitas bakteri dan menyebabkan kematian pada bakteri. Dalam penelitian lainnya menegaskan bahwa protein yang bernama *lumbricin-1* memiliki aktivitas antibakteri.¹¹ Untuk mengetahui seberapa besar kandungan *lumbricin-1* dalam cacing tanah dapat menimbulkan efek pengobatan masih perlu

dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian sebelumnya melakukan percobaan pada konsentrasi 10%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Zona penghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* mulai terbentuk pada konsentrasi 50%, 75% dan 100% dengan diameter zona hambat sebagai berikut 7,6 mm, 8,5 mm dan 11,6 mm.¹⁴ Sedangkan pada peneliti lainnya yang melakukan percobaan dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% tercatat mulai menghambat pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dengan diameter zona hambat secara berurutan 9 mm, 13 mm, 15 mm dan 18 mm.⁹

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik melakukan penelitian tentang ekstrak cacing tanah dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% secara in vitro pada bakteri *Salmonella typhi*.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak cacing tanah dengan beberapa konsentrasi terhadap bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro ?

1.3. Hipotesis

HO: Tidak terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak cacing tanah dalam beberapa konsentrasi terhadap bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro.

H1: Terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak cacing tanah dalam beberapa konsentrasi terhadap bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak cacing tanah pada beberapa konsentrasi terhadap bakteri salmonella typhi.

1.4.2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui konsentrasi minimal ekstrak cacing tanah yang menunjukkan zona hambat yang paling kecil.
- b. Untuk mengetahui konsentrasi maksimum ekstrak cacing tanah yang menunjukkan zona hambat yang paling besar.
- c. Untuk mengetahui zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai salah satu obat alternatif untuk demam tifoid.

1.5.2. Bagi Peneliti

Penelitian ini dapat mejadi salah satu refrensi bagi peneliti untuk mengaplikasikan dan mengembangkan ilmu yang telah didapat selama belajar di fakultas kedokteran.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing Tanah

Cacing tanah (*Lumbricuss rubellus*) adalah salah satu cacing tanah yang paling luas di dunia dan telah sampai ke bagian Kanada, Amerika Serikat, Amerika Selatan dan Rusia.¹⁵ Di Cina sudah lama dimanfaatkan sebagai ramuan obat semenjak sekitar 4.000 SM yang sering disebut “dilong” dan beberapa tempat di Indonesia seperti Jawa Barat, Palembang dan Lampung sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional.^{14,16}

Cacing tanah di dunia telah teridentifikasi sebanyak 1.800 spesies. Cacing tanah jenis *Lumbricus* mempunyai panjang tubuh sekitar 60-130 mm, diameter tubuh 3-4 mm dan bentuk tubuh yang pipih. Jumlah segmen yang dimiliki sekitar 90-195 dan klitelium yang terletak pada segmen 27-32. Pada ujung kepala berwarna merah keunguan, tubuh bagian ventral berwarna krem dan bagian ekor berwarna kekuningan. Bentuk tubuh membulat dan ventral memipih. Bagian reproduksi jantan terletak pada segmen ke-14 dan yang betina terletak pada segmen ke -13. Pergerakan pada cacing tanah lambat dan mengandalkan kulit sebagai alat pernafasan. Cacing tanah sangat peka terhadap cahaya dan cacing juga memiliki tonjolan dekat permukaan mulut disebut *prostomium* terdiri atas sensor berstruktur lensa untuk menggantikan fungsi mata. Kadar air dalam tubuh cacing berkisar 85%. Klasifikasi cacing tanah adalah sebagai berikut.^{17,10}

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

2.1.1. Manfaat cacing tanah

Selain di Indonesia, cacing tanah banyak digunakan di Cina, Korea, Vietnam dan banyak tempat lain di Asia Tenggara. Biasanya digunakan sebagai obat-obatan. Dalam pemanfaatan sebagai obat dapat digunakan sebagai fibrinolitik dan antitrombotik pada kejadian *thrombosis* yang termasuk dalam penyebab terjadinya stroke iskemik.¹⁸ Cacing tanah juga digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan tifus, menurunkan kadar kolesterol, meningkatkan daya tahan tubuh dan menurunkan tekanan darah tinggi.¹⁹ Bahkan, tidak sedikit produk kosmetik yang memanfaatkan bahan aktif tersebut sebagai substrat pelembut kulit, pelembab wajah dan antiinflamasi.¹⁰ Cacing tanah juga memegang peranan penting dalam banyak bidang, diantaranya bidang pertanian, lingkungan hidup dan peternakan.²⁰

Dalam cacing tanah terdapat sejumlah enzim seperti lumbrokinase, peroksidase, katalase dan selulase.¹⁴ Lumbrokinase merupakan sekelompok enzim proteolitik yang meliputi plasminogen aktivator dan plasmin. Lumbrokinase digunakan sebagai fibrinolitik dan antitrombotik pada kejadian trombosis, seperti pada kejadian infark miokard dan *stroke*. Selain itu, lumbrokinase diketahui memiliki efek antiiskemia, antiplatelet dan antiinflamasi.¹⁸ Cairan selom pada cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mengandung lebih dari 40 protein.¹⁰ Protein tersebut adalah *lumbricin-1*.²¹ *Lumbricin-1* merupakan peptida antimikroba yang mengandung asam amino, mempunyai aktifitas antimikroba berspektrum luas, yaitu menghambat bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif.²² Selain itu juga terdapat senyawa *caelomocyter* (bagian sel darah putih) yang di dalamnya terdapat lisozim yang berperan dalam aktivitas fagositosis serta berfungsi untuk meningkatkan imunitas.¹⁴

2.2 Bakteri *Salmonella typhi*

Salmonella typhi merupakan penyakit endemik pada sebagian besar kawasan Afrika sub-Sahara dan menyebabkan penyakit sistemik,

yaitu demam tifoid.²³ *Salmonella typhi* berbentuk batang, tidak berspora, pada pewarnaan bersifat gram negatif, ukuran 1-3.5 μm x 0.5-0.8 μm , mempunyai flagel peritrik. *Salmonella typhi* dapat tumbuh pada suasana aerob dan anaerob, pada suhu 15-41 °C (suhu pertumbuhan optimum 37.5 °C). *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat; gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilalanin deaminase, urease) Voges Proskauer, reaksi fermentasi terhadap sukrose laktose, adonitol serta tidak tumbuh dalam larutan KCN. Pada agar SS, Endo, EMB dan *MacConkey* koloni kuman berbentuk bulat dan kecil. *Salmonella typhi* tumbuh dengan mudah pada media yang sederhana, membentuk asam, biasanya menghasilkan H₂S dan terkadang menghasilkan gas dari glukosa dan manosa²⁴. Bakteri *Salmonella typhi* memiliki taksonomi sebagai berikut,

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Proteobacteria</i>
<i>Class</i>	: <i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Order</i>	: <i>Enterobacteriales</i>
<i>Family</i>	: <i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Salmonella</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Salmonella typhi</i>

Berdasarkan serotipe *Salmonella*, diklasifikasikan menjadi empat serotipe, yaitu *Salmonella paratyphi* A (serogroup A), *Salmonella paratyphi* B (serogroup B), *Salmonella choleraesuis* (serogroup C1), *Salmonella typhi* (serogroup D).¹

2.2.1 Patogenesis Bakteri *Salmonella Typhi*

Bakteri *Salmonella typhi* masuk kedalam tubuh melalui makanan yang terkontaminasi. Sebagian bakterinya dimusnahkan di lambung dan yang sebagian lagi lolos masuk ke dalam usus dan berkembang biak. Bila respon imunitas humoral mukosa (IgA) usus kurang baik, maka kuman akan menembus sel-sel epitel (sel-M) dan selanjutnya ke lamina propia. Di

lamina propia kuman berkembang biak dan difagosit oleh sel-sel fagosit terutama oleh makrofag. Bakteri tersebut dapat hidup dan berkembang biak di dalam makrofag dan selanjutnya dibawa ke plak payer ileum distal dan kemudian ke kelenjar getah bening mesenterika selanjutnya melalui duktus torasikus bakteri yang terdapat didalam makrofag ini masuk kedalam sirkulasi darah (mengakibatkan bakteremia pertama yang asimtomatik) dan menyebar keseluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama hati dan limpa. Di organ-organ tersebut bakteri berkembang biak dan masuk kembali ke dalam sirkulasi darah dan mengakibatkan bakterimia kedua dengan disertai tanda dan gejala penyakit infeksi sistemik. Bakteri tersebut juga dapat masuk ke dalam kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan secara intermiten ke dalam lumen usus. Sebagian bakteri di dikeluarkan bersama feses dan sebagian lagi masuk kedalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses yang sama terulang kembali dan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik seperti demam, malaise, mialgia, sakit kepala, sakit perut, diare atau konstipasi, perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat erosi pembuluh darah sekitar *plague peyeri* yang sedang mengalami nekrosis dan hiperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuklear di dinding usus. Proses patologis jaringan limfoid ini dapat berkembang hingga ke lapisan otot, serosa usus dan dapat mengakibatkan perforasi.²

2.3 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Berikut mekanisme zat antimikroba;

1. Menghambat metabolisme sel

Untuk bertahan hidup, mikroba membutuhkan asam folat yang di produksi oleh mikroba tersebut. Zat antimikroba akan mengganggu proses pembentukan asam folat, sehingga menghasilkan asam folat yang nonfungsional dan metabolisme dalam sel mikroba akan terganggu.

2. Menghambat sintesis protein

Terjadinya denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat dari beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi ireversibel komponen sel yang mendukung kehidupan suatu sel.

3. Menghambat sintesis dinding sel

Bakteri dikelilingi dinding sel yang berfungsi untuk melindungi membran protoplasma yang ada dalam sel. Senyawa antimikroba mampu merusak dan mencegah proses sintesis dinding sel, sehingga akan menyebabkan terbentuknya sel yang peka terhadap tekanan osmotik.

4. Menghambat permeabilitas membrane sel

Membran sel berfungsi untuk penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Antimikroba dapat merusak salah satu fungsi dari membran sel sehingga dapat menyebabkan gangguan pada kehidupan sel.

5. Merusak asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peran penting di dalam proses kehidupan sel. Sehingga gangguan apapun yang terjadi dalam pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan secara menyeluruh pada sel.

2.4 Pengukuran Antimikroba

Metode pengujian daya antimikroba bertujuan untuk menentukan konsentrasi suatu zat antimikroba sehingga memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat dua metode untuk menguji daya antimikroba, yaitu dilusi dan difusi.

1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram, dilakukan pengukuran setelah didiamkan selama 18-24 jam dan diukur menggunakan jangka sorong. Berikut beberapa metode dilusi;

a. Metode *disc diffusion* atau metode *Kirby Baure*

Metode ini menggunakan kertas cakram yang berisi zat antimikroba dan diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri uji.

b. Metode gradient

Digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) yaitu konsentrasi minimal zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

2. Metode Dilusi

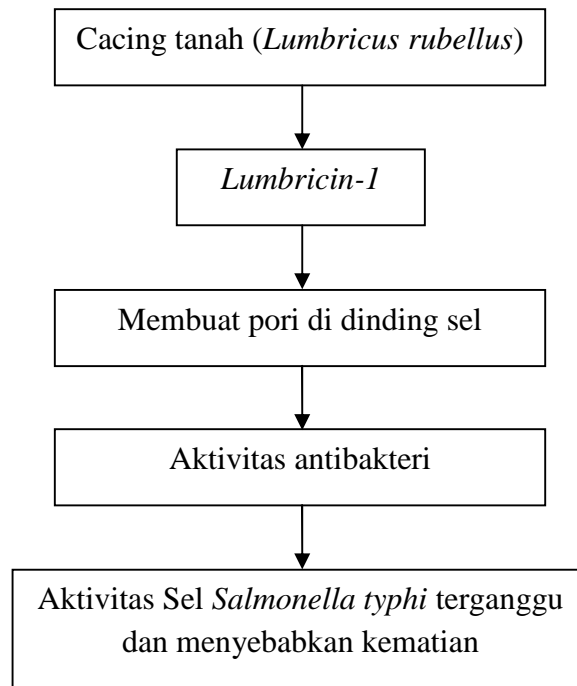
Menggunakan zat antimikroba dengan konsentrasi atau kadar yang menurun secara bertahap. Tujuannya untuk mengetahui kadar minimum zat antibakteri untuk menghambat atau membunuh bakteri uji. Zat antimikroba diencerkan pada medium cair yang telah ditambahkan bakteri uji. Larutan antimikroba dengan kadar terkecil dan terlihat jernih ditetapkan sebagai KHM. KHM dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri dan zat antimirkoba, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap cair ditetapkan sebagai kadar bunuh minimum (KBM).

2.5 Aktivitas Antimikroba Cacing Tanah

Cairan selom pada cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mengandung lebih dari 40 protein¹⁰. Protein tersebut adalah *lumbricin-1*.²¹ Protein tersebut membuat pori di dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan sitoplasma sel bakteri menjadi terpapar dengan lingkungan luar yang dapat mengganggu aktivitas bakteri dan menyebabkan kematian pada bakteri. Lumbricin-1 merupakan peptida antimikroba yang mengandung asam

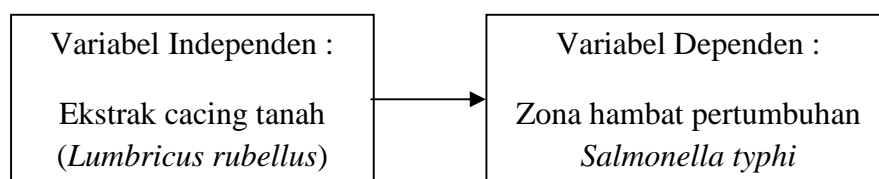
amino, mempunyai aktifitas antimikroba berspektrum luas, yaitu menghambat bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif.²²

2.6 Kerangka teori



Bagan 2.1. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Bagan 2.2 Kerangka Konsep

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Identifikasi ekstrak cacing tanah (*Lumbricuss rubellus*) dilakukan di Laboratorium Biologi Hewan Universitas Sumatra Utara (USU). Proses ekstraksi cacing tanah *Lumbricus rubellus* dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Sumatera Utara. Uji efektivitas ekstrak cacing tanah (*Lumbricuss rubellus*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Kota Medan.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Maret tahun 2019.

3.3 Bahan yang Diuji

Pada penelitian ini bahan yang diuji adalah ekstrak cacing tanah (*Lumbricuss rubellus*), kloramfenikol sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Cacing tanah (*Lumbricuss rubellus*) yang didapatkan di Jalan Pintu Air IV No. 412 Kota Medan. Kemudian dijadikan sebagai ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.

3.4 Sampel penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah bakteri *Salmonella Typhi* yang dibiakkan pada medium *Mac Conkey*.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Cawan petri, ose, jangka sorong, timbangan digital, *autoclave*, swab kapas, tisu, pinset, kamera, blender, kertas saring, pengaduk, tabung reaksi steril, thermometer dan rak tabung.

3.5.2. Bahan penelitian

Cacing tanah, etanol 96%, antibiotik kloramfenikol, media *Muller Hinton Agar*, media *Mc.Conkey Agar*, *Standart Mc. Farland* 0,5, akuades dan biakan *Salmonella typhi*.

3.6 Identifikasi Variabel

3.6.1. Variabel Bebas

Ekstrak cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dengan konsentrasi yang berbeda 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.

3.6.2. Variabel Terikat

Pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro.

3.6.3 Variabel Kontrol

Kontrol positif antibiotik kloramfenikol 30 µg dan kontrol negatif akuades.

3.7 Defenisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Defenisi	Alat ukur	Cara ukur	Hasil	Skala
Ekstrak cacing tanah (<i>Lumbricus rubellus</i>)	Sediaan pekat yang diperoleh dari cacing tanah melalui proses maserasi.	Timbangan digital	Menggunkan rumus: V1.C1= V2.C2	Ekstrak cacing tanah dalam konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%,	Interval

Diameter zona hambat pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i>	Pertumbuhan bakteri yang terbentuk setelah diberikan variabel dependen	Jangka sorong	Mengukur zona jernih disekeliling kertas cakram	70%, 80%, 90%, dan 100%.) Zona hambat dalam (cm)	Rasio
Kloramfenikol 30 µg	Antibiotik yang bekerja menghentikan perumbuhan bakteri	Jangka sorong	Mengukur zona jernih disekeliling kertas cakram kloramfeniko 1 30 µg	Zona hambat dalam (cm)	Rasio
Akuades	Air hasil destilasi/ penyulingan sama dengan air murni	Gelas ukur		Volume dalam ml	Rasio

3.8 Langkah Kerja Penelitian

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Mencuci seluruh alat yang akan dipergunakan, kemudian keringkan. Selanjutnya disterilisasi dengan alat *autoclave* selama 15 menit.

2. Persiapan Sampel

Cacing tanah (*Lumbricuss rubellus*) di determinasi di laboratorium Biologi Hewan (USU) untuk memastikan kebenaran jenis hewan yang digunakan.

3. Pembuatan Ekstrak Cacing Tanah

Cacing tanah dicuci bersih hingga tidak ada tanah yang menempel di permukaan kulit. Sebanyak 3500 gram cacing tanah direbus tidak sampai 2 menit lalu di keringkan menggunakan oven. Cacing tanah yang sudah kering ditimbang, setelah itu

blender sebelum di ekstraksi. Pembuatan ekstrak cacing tanah dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Sumatera Utara (USU) menggunakan metode maserasi yaitu perendaman menggunakan etanol. Sampel yang dibuat dalam bentuk serbuk dilarutkan menggunakan etanol 96% lalu diaduk kuat hingga homogen. Kemudian didiamkan selama 5 hari ditempat yang terlindung dari cahaya. Setelah itu, disaring dan hasil filtrasi diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dan air yang masih tersisa sehingga didapatkan ekstrak kental.

4. Pembuatan variabel konsentrasi ekstrak cacing tanah

Sediaan dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Untuk membuat larutan ekstrak cacing tanah dengan konsentrasi 10% ambil larutan induk (100% ekstrak cacing tanah) sebanyak 1 ml, lalu tambah akuadest steril 9 ml. Perhitungan pembuatan konsentrasi dilakukan dengan rumus $V_1.C_1 = V_2.C_2$.

V_1 = volume persediaan ekstrak cacing tanah yg diambil.

C_1 = konsentrasi persediaan ekstrak cacing tanah

V_2 = volume ekstrak cacing tanah dalam konsentrasi yang diinginkan (air+ekstrak)

C_2 = konsentrasi ekstrak cacing tanah yang diinginkan

Nilai yang ditetapkan adalah :

$C_1 = 100 \%$

Nilai yang dicari adalah :

a. V_1 jika $C_2 = 10\%$, $V_1 = 1$ ml

b. V_1 jika $C_2 = 20\%$, $V_1 = 2$ ml

c. V_1 jika $C_2 = 30\%$, $V_1 = 3$ ml

d. V_1 jika $C_2 = 40\%$, $V_1 = 4$ ml

e. V_1 jika $C_2 = 50\%$, $V_1 = 5$ ml

f. V_1 jika $C_2 = 60\%$, $V_1 = 6$ ml

g. V_1 jika $C_2 = 70\%$, $V_1 = 7$ ml

h. V_1 jika $C_2 = 80\%$, $V_1 = 8$ ml

- i. V1 jika C2 = 90%, V1 = 9 ml
- j. V1 jika C2 = 1000%, V1 = 10 ml

Tabel 3.2. Jumlah ekstrak cacing tanah yang diencerkan

V2	C2	C1	$V1 = V2.C2/C1$
10 ml	10 %	100%	1 ml
10 ml	20 %	100%	2 ml
10 ml	30 %	100%	3 ml
10 ml	40 %	100%	4 ml
10 ml	50%	100%	5 ml
10 ml	60%	100%	6 ml
10 ml	70%	100%	7 ml
10 ml	80%	100%	8 ml
10 ml	90%	100%	9 ml
10 ml	100%	100%	10 ml

5. Pembuatan Kultur Bakteri *Salmonella typhi*

Persediaan bakteri *Salmonella typhi* dibiakkan pada media *Muller Hinton Agar* selama 24 jam.

6. Tahapan Pengujian

1. Ambil disk yang sudah direndam dengan konsentrasi ekstrak cacing tanah lalu letakkan diatas cawan petri yang sudah ditanami bakteri *Salmonella typhi*. Buat kontrol positif dan negatif.
2. Kontrol positif : ambil disk kloramfenikol, letakkan diatas permukaan media *Muller Hilton Agar*, yang sudah ditanami bakteri *Salmonella typhi*. Kontrol negatif : ambil disk kosong yang sudah direndam dengan akuades, diletakkan diatas permukaan media *Muller Hilton Agar* yang sudah ditanami bakteri *Salmonella typhi*.
3. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 derajat celcius.

4. Ukur zona hambat ekstrak cacing tanah terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milliliter.

Menurut Davis dan Stout tahun 1971, kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri memiliki beberapa kriteria seperti berikut :

Tabel 3.3. Kriteria Kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri

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

7. Rumus Pengulangan

Untuk mendapatkan data yang valid dilakukan pengulangan sesuai rumus Federer tahun 1977 sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) = 15$$

n = banyak pengulangan

t = perlakuan, dalam hal ini ada 10 perlakuan (perlakuan dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%), sehingga didapati:

$$(n-1)(t-1) = 15$$

$$(n-1)(10-1) = 15$$

$$(n-1)(9) = 15$$

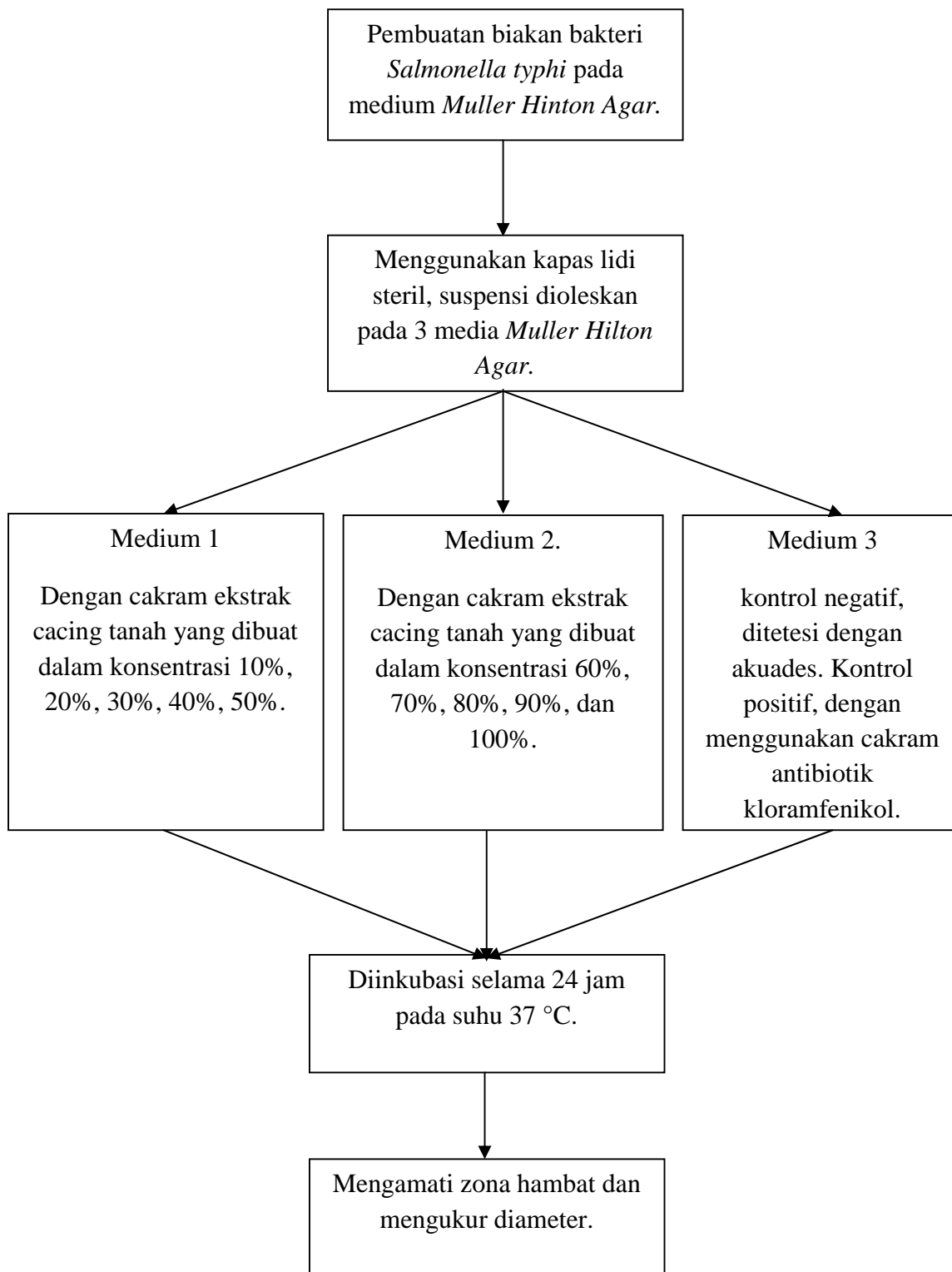
$$(n-1) = 15 : 9$$

$$(n-1) = 1,67$$

$$\begin{aligned}n &= 2,67 \\ &= 3\end{aligned}$$

Jadi, banyak pengulangna pada penelitian tersebut adalah sebanyak 3 kali.

3.9 Alur Penelitian



Bagan 3.1. Alur penelitian

3.10 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis univariat dan bivariat yang disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi. Analisis ini menggambarkan secara univariat tentang % (konsentrasi) dan zona hambat dalam bentuk tabel. Uji yang digunakan jika terdistribusi normal menggunakan uji *One Way Anova*, pengujian statistik ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan yang sungguh memberikan pengaruh secara signifikan. Kemudian dilanjutkan dengan uji hipotesis *post hoc boferroni*. Uji alternatif yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis*, yaitu untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua