I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Cacing tanah salah satunya adalah *Lumbricus rubellus* merupakan komoditi ekspor yang mendapat respon baik dari pengusaha di Indonesia. *Lumbricus rubellus* atau cacing tanah merah adalah salah satu spesies cacing tanah dari genus *Lumbricus*. Tubuh *Lumbricus rubellus* memanjang membulat dan memipih serta berwarna merah sumsum dengan panjang berkisar antara 7,62-9,16 cm (Suyuti, 2014). Bagian perutnya berwarna krem dengan bagian ekor berwarna kekuningan. Cacing tanah sebagian besar memiliki nutrisi di dalam tubuhnya yaitu protein.

Sejak tahun 1989 telah dikembangkan di negara Amerika oleh terkait penelitian ekstrak cacing tanah yang digunakan sebagai salah satu fibrinolitik pada lisis fibrin yang berasal dari darah vena pada penderita tumor ganas. (Eˇcimovi´c, 2021). Di Indonesia mulai muncul adanya paradigma perubahan kearah tradisional kembali sejak dilanda virus *covid-19* yang saat ini cenderung lebih memilih kearah tradisional dan menyebabkan meningkatnya kebutuhan masyarakat pada obat-obat tradisional. Semakin banyaknya kasus resistensi pada antibiotik menjadi salah satu faktor alasan yang dipilih masyarakat yakni kearah tradisional. Selain itu, tidak hanya dari segi kesehatan melainkan dari segi peternakan juga membutuhkan protein tambahan dalam pakan yang dapat menaikkan bobot ternak (Pratomo, 2020).

Di Indonesia cacing tanah khususnya *Lumbricus rubellus* hanya dimanfaatkan sebagai pakan ikan saat memancing atau hanya dibiarkan alami didalam kelembapan tanah tanpa dimanfaatkan atau dibudidayakan dengan baik. Dalam bidang pertanian, cacing tanah dapat menjadi pupuk alami bagi lahan pertanian. Berdasarkan isu-isu diatas, maka peneliti merencanakan untuk mengembangkan kembali potensi cacing tanah khususnya jenis *Lumbricus rubellus* dengan metode ekstraksi. Umumnya, metode ekstraksi digunakan untuk memperoleh ekstrak protein pada cacing tanah. Jenis ekstraksi pada cacing tanah dapat menggunakan proses ekstraksi dengan menggunakan hidrolisis protein.

Hidrolisis protein ada dua jenis yaitu secara enzimatik mikroorganisme (Friedland *et al*., 2015) dan enzimatik kimia yakni dengan penambahan NaCl (Cheung *et al*., 2014). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Friedland *et al*. (2015), lebih memilih ekstraksi anaerobik dengan metode penambahan mikroorganisme dan juga *sugar* sebagai bahan makanan utama mikroorganisme hal ini dikarenakan inkubasi anaerobik mengandalkan aktivitas mikroorganisme dapat menghemat biaya operasional. Hal ini juga dilakukan oleh Shanmuga *et al*. (2014), yang menyatakan bahwa mikroorganisme anaerob ditemukan dalam usus cacing tanah yang nantinya mampu membentuk protein. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Cheung *et al*. (2014), bahwasanya penelitian tersebut menggunakan metode enzimatik kimia dengan penambahan NaCl namun hasil penelitian menunjukkan bahwa metode ini kurang efektif untuk pengambilan protein. Hal ini dikarenakan waktu inkubasi yang dilakukan terlalu cepat sehingga protein yang dihasilkan kurang optimal. Penelitian yang dilakukan oleh Suliman *et al*. (2018), ternyata tidak hanya dari konsentrasi molases ataupun garam melainkan adanya perubahan pH juga menjadi salah satu faktor pembentukan protein saat inkubasi.

Berdasarkan hasil dari beberapa para peneliti diatas, maka salah satu strategi yang diambil dalam penelitian ini dilakukan dengan uji kadar protein pada cacing menggunakan metode hidrolisa enzimatik kimia yakni dengan penambahan NaCl sebagai pelarut yang nantinya diberikan *treatment* variasi waktu inkubasi dan 3 variasi konsentrasi NaCl yakni 3%, 6% dan 9%. Alasan pemberian waktu inkubasi karena dengan adanya waktu inkubasi memberikan peluang bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan menguraikan senyawa-senyawa pada cacing yang diharapkan dapat berkontribusi pada pembentukan protein. Setelah penelitian ini dilakukan, harapannya untuk kedepan dapat memanfaatkan protein pada cacing tanah khususnya *Lumbricus rubellus* lebih maksimal dari segala bidang seperti farmasi atau bidang kesehatan, kosmetik atau bidang kecantikan, maupun bidang peternakan.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui jumlah protein optimal yang terdapat pada cacing tanah dengan waktu dan konsentrasi garam tertentu.
2. Mengetahui total padatan terlarut yang terdapat di dalam cacing tanah.
3. Mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap pembentukan protein pada cacing tanah.

1.3 Kerangka Pemikiran

Cacing tanah dikenal sebagai komoditas potensial untuk dibudidayakan dan dikembangkan menjadi produk pakan ternak, pakan ikan, obat-obatan. Cacing tanah mengandung kadar protein tinggi, sekitar 76%, jauh lebih tinggi dari pada kadar protein pada daging mamalia dan ikan (Cheung *et al*., 2014). Berdasarkan dari kandungan cacing tanah yang kaya akan protein, maka seiring dengan perkembangan zaman saat ini para peneliti sedang mengembangkan cara pengambilan protein dalam cacing tanah dengan metode ekstraksi basah maupun kering yang mampu menghasilkan protein sebanyak mungkin.

Ada beberapa metode yang dapat dilakukan untuk melakukan ekstraksi cacing tanah yakni enzimatik mikroorganisme anaerob, mikroorganisme aerob, enzimatik kimia aerob dan anerob. Berdasarkan referensi yang telah ditelaah maka penelitian ini akan dilakukan pengambilan protein dengan metode enzimatik kimia anaerob yakni menggunakan pelarut NaCl dengan beberapa konsentrasi dan variasi waktu inkubasi. Prinsip kerja dari metode yakni cacing tanah yang telah menjadi jus dicampurkan dengan larutan NaCl (3%, 6%, dan 9%) dan variasi waktu inkubasi (24, 48, dan 72 jam) tanpa penambahan oksigen dari luar.

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran, didapatkan hipotesis berupa:

1. Didapatkan jumlah protein protein optimal yang terdapat pada cacing tanah dengan waktu dan konsentrasi garam.
2. Didapatkan total padatan terlarut yang terdapat didalam cacing tanah.

3. Diketahui pengaruh waktu inkubasi dan suhu terhadap pembentukan protein pada cacing tanah.

1.5 Kontribusi Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat dan juga konstribusi:

1. Bagi penulis, diharapkan dapat mengimplementasikan dalam bidang penelitian kimia serta menambah wawasan berupa ilmu pengetahuan tentang teknologi ekstraksi cacing tanah yang optimal.
2. Bagi Kampus Politeknik Negeri Lampung, sebagai referensi mahasiswa lainnya yang akan melakukan uji penelitian dan menambah ilmu pengetahuan wawasan mengenai ekstraksi cacing tanah yang optimal.
3. Bagi masyarakat yang memiliki home industri tapioka ataupun perusahaan tapioka sebagai edukasi masyarakat dan wawasan pengetahuan tentang teknologi ekstraksi cacing tanah yang optimal sehingga dapat dimanfaatkan untuk segala bidang baik perikanan, obat dan juga kosmetik.
4. Bagi pemerintah, penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mengurangi dan menekan peningkatan penggunaan bahan kimia sehingga nantinya dapat bermanfaat disegala bidang baik perikanan, obat dan juga kosmetik.

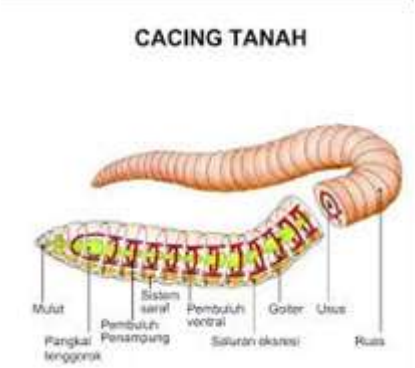
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing (*Lumbricus rubellus*)

Lumbricus rubellus atau cacing tanah merah adalah salah satu spesies cacing tanah dari genus *Lumbricus*. Tubuh *Lumbricus rubellus* memanjang membulat dan memipih serta berwarna merah sumsum dengan panjang berkisar antara 7,62 – 9,16 cm. Bagian perutnya berwarna krem dengan bagian ekor berwarna kekuningan. Sebagian besar nutrisi di dalam tubuhnya adalah protein (Suyuti, 2014). Habitat *Lumbricus rubellus* dapat hidup di permukaan tanah yang lembap terutama pada kotoran dan sampah. Makanannya adalah bahan organik pada kotoran ternak dan sisa-sisa tumbuhan. *Lumbricus rubellus* termasuk dekomposer yang baik. Obat yang dibuatdari protein tubuh *Lumbricus rubellus* dapat menyembuhkan berbagai penyakit khususnya penyakit jantung dan kelumpuhan. *Lumbricus rubellus* telah dibudidayakan di Eropa, Amerika Serikat dan Kanada sebagai ternak komersial.

2.2 Penampilan Fisik

Lumbricus rubellus termasuk dalam kelompok *avertebrata* karena tidak memiliki tulang punggung. *Lumbricus rubellus* disebut sebagai cacing tanah merah karena warna kulitnya adalah merah. Warna merah pada kulit *Lumbricus rubellus* sama dengan warna sumsum. Ukuran tubuh *Lumbricus rubellus* dapat sepanjang 7 – 10 cm (Suyuti, 2014). *Lumbricus rubellus* tidak mempunyai mata. Bagian perut dari *Lumbricus rubellus* berwarna krem. Lalu di bagian ekornya berwarna kekuningan. Bentuk tubuhnya panjang membulat dan sedikit memipih. Cincin – cincin pada permukaan tubuhnya tidak muncul pada usia muda. Namun baru muncul ketika berusia dewasa.



Gambar 1. Anatomi Cacing Tanah

Berikut klasifikasi dan bentuk *Lumbricus rubellus Hoffmeister*:

Kingdom : Animalia

Phylum : Annelida

Class : Clitellata

Ordo : Opisthopora

Family : Lumbricidae

Genus : Lumbricus

Species : Lumbricusrubellus Hoffmeister

2.3 Kandungan Cacing Tanah

Tabel 1. Komposisi Asam Amino Tepung Cacing Tanah (% Bahan Kering)

Kandungan	Komposisi
Asam Amino Esensial :	
Fenilalanin	1,63
Valin	2,07
Metionin	2,73
Isoleusin	3,14
Treonin	1,63
Histidin	3,04
Arginin	1,97
Lisis	2,27
Leusin	1,84
Sistin	0,61
Tirosin	1,29
Asam Amino Non Esensial :	
Aspartat	3,77
Glutamat	5,71
Serin	1,11
Glisin	1,57
Alanin	1,12
Prolin	0,87

Sumber : Hayati *et al*., 2011

2.4 Protein

Protein adalah kelompok besar biomolekul yang terdiri dari satu atau lebih rantai panjang asam amino. Protein adalah salah satu jenis makromolekul polipetida penyusun sebagian besar sel dalam tubuh, baik manusia maupun hewan yang mengandung karbon, hidrogen, nitrogen dan kadang kala sulfur serta fosfor (Khotimah *et al*., 2021). Protein memiliki banyak fungsi pada makhluk hidup, antara lain mempercepat reaksi metabolisme, mereplikasi DNA, menanggapi rangsangan, membentuk sel dan tubuh, serta memindahkan molekul dari satu tempat ketempat lain (Anissa dan Dewi, 2021).

Sumber protein dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, nabati dan hewani. Protein nabati protein yang didapatkan dari tumbuh-tumbuhan seperti sayur-sayuran, buah-buahan atau kacang-kacangan (Ernawati *et al*., 2017). Sedangkan protein hewani adalah jenis protein yang didapatkan dari hewan, seperti daging-dagingan, telur, hingga susu (Santoso, 2022).

Bentuk protein diklasifikasikan menjadi beberapa bentuk, seperti serabut (*fibrosa*), *globular*, dan konjugasi (Probosari, 2019). Protein dengan bentuk *fibrosa* terdiri dari beberapa rantai peptida dengan bentuk spiral yang saling terjalin hingga menyerupai batang yang kaku. Protein dengan bentuk ini memiliki karakteristik daya larut yang rendah, kekuatan mekanis yang tinggi, dan memiliki daya tahan terhadap enzim pencernaan. Contoh dari bentuk ini adalah elastin, kolagen, miosin, dan keratin. Lalu, protein dengan bentuk *globular* berbentuk bola dan terdapat dalam cairan jaringan tubuh manusia. Protein dengan bentuk ini dapat larut dalam larutan garam dan asam. Karakteristik dari jenis ini adalah mudah berubah dibawah pengaruh suhu dan konsentrasi garam, serta mudah mengalami denaturasi. Contoh dari jenis protein ini adalah albumin, globulin, dan histon. Sedangkan protein konjugasi adalah jenis protein sederhana yang terikat dengan gugus non-asam amino. Gugus non-asam amino dinamakan gugus prosterik. Contoh dari protein konjugasi adalah *nucleoprotein, hemoprotein, fosfoprotein, lipoprotein, flavoprotein*, dan *metaloprotein* (Probosari, 2019).

Salah satu cara untuk mendapatkan protein adalah dengan melakukan proses ekstraksi atau pemisahan. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya pH, suhu, ukuran partikel, dan waktu ekstraksi (Probosari, 2019). Pada

penelitian terdahulu, ektraksi protein dilakukan menggunakan larutan garam. Hal ini sesuai dengan penjelasan sebelumnya yang menyatakan bahwa protein larut dalam larutan garam. Pada proses ekstraksi protein, akan terjadi peristiwa *salting-in* dan *salting-out*.

Salting-in adalah peristiwa saat adanya penambahan garam pada konsentrasi yang rendah, sehingga akan membuat protein menjadi bermuatan dan dapat larut dalam larutan garam. Ion dari garam akan mengubah interaksi permukaan antara protein dan air, sehingga menyebabkan adanya peningkatan kelarutan protein (Maslikhah, 2015). Seiring dengan peningkatan konsentrasi garam akan menyebabkan peristiwa *salting out* (Karso *et al*., 2014).

Salting-out adalah peristiwa akibat konsentrasi garam terlalu tinggi. Pada proses ini, terjadi penurunan kekuatan ion untuk mengikat protein, sehingga terjadi persaingan antara garam dan protein untuk mengikat air. Akibat tingginya konsentrasi garam, garam akan lebih banyak mengikat air dibandingkan protein mengikat air, sehingga menyebabkan adanya gaya tarik menarik antar protein sehingga protein akan mengendap dari larutan atau berikatan dengan kolom hidrofobik (Maslikhah, 2015).

2.5 Asam Amino

Asam amino merupakan molekul organik inti dari pembentukan protein, sehingga asam amino menjadi komponen sangat penting dalam struktur dan pembentukan fungsi protein. Asam amino memiliki struktur tubuh yang terdiri dari karbon pusat (atom karbon) yang terikat pada gugus amino ($-NH_2$), gugus karboksil (-COOH), atom hidrogen (H), dan sisa rantai samping (R). Ada 20 jenis asam amino yang umum ditemukan dalam protein manusia, masing-masing ditentukan oleh sisa rantai sampingnya yang berbeda (Sari *et al*., 2017).

2.6 Ekstraksi Protein

Metode ekstraksi protein adalah proses pemisahan atau penghilangan protein dari komponen lain suatu bahan untuk mendapatkan protein sebanyak mungkin. Berdasarkan dari beberapa referensi dan juga sumber, ada beberapa metode

ekstraksi protein yang umum digunakan dan hal ini tergantung pada sumber protein dan tujuan ekstraksi. Berikut adalah beberapa metode ekstraksi protein yang sering digunakan:

1. Ekstraksi dengan Larutan Garam: Metode ini melibatkan penggunaan larutan garam seperti natrium klorida (NaCl) atau kalium klorida (KCl) untuk melarutkan protein dari jaringan atau sel sumber. Garam bekerja dengan mengurangi kekuatan interaksi elektrostatis antara protein dan komponen seluler lainnya.
2. Ekstraksi dengan Larutan Asam atau Basa: Larutan asam (seperti asam asetat) atau larutan basa (seperti natrium hidroksida) dapat digunakan untuk mengekstraksi protein dari jaringan dengan cara melarutkan komponen seluler yang mengelilingi protein.
3. Ekstraksi dengan Pelarut Organik: Pelarut organik seperti metanol, etanol, atau asetonitril dapat digunakan untuk ekstraksi protein, terutama jika protein tersebut terlarut dengan baik dalam pelarut tersebut.
4. Ekstraksi dengan Pengendapan dan Presipitasi: Metode ini melibatkan penambahan senyawa tertentu ke dalam larutan protein yang menyebabkan protein mengendap atau membentuk presipitat. Kemudian, protein dapat dipisahkan dengan sentrifugasi atau filtrasi.
5. Ekstraksi dengan Teknik Kromatografi: Kromatografi adalah teknik pemisahan yang digunakan untuk mengisolasi protein berdasarkan perbedaan sifat-sifatnya. Ada berbagai jenis kromatografi, seperti kromatografi kolumna, kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), atau kromatografi afinitas.
6. Ekstraksi dengan Teknik Elektroforesis: Elektroforesis adalah teknik yang menggunakan medan listrik untuk memisahkan protein berdasarkan muatan listrik dan ukuran molekulnya. Teknik ini sering digunakan dalam karakterisasi protein setelah ekstraksi.
7. Ekstraksi dengan Teknik Pengendapan Isotop: Metode ini melibatkan penggunaan isotop khusus untuk mengendapkan protein dari larutan. Setelah protein terendap, mereka dapat dipisahkan dari larutan dan dimurnikan lebih lanjut.

2.7 Inkubasi

Secara umum untuk mendapatkan ekstrak protein cacing tanah didapatkan menggunakan proses ekstraksi. Ada beberapa contoh proses ekstraksi salah satunya yaitu inkubasi inkubasi anaerob. Ektraksi menggunakan inkubasi anaerob mengandalkan aktivitas dari mikroorganisme sehingga dapat menghemat biaya operasional. Dalam penelitian Prabha, *et al.* (2014), menyebutkan bahwa di dalam usus cacing tanah terdapat mikroorganisme yang bersifat anaerob fakultatif, dengan menggunakan inkubasi memberikan kesempatan mikroorganisme pada cacing tanah untuk tumbuh dan memecah senyawa-senyawa sehingga diharapkan dapat membantu dalam pelarutan protein cacing tanah (Hidayat *et al*, 2018).

2.8 *Total Dissolved Solid* (TDS)

Total Dissolved Solid (TDS) yaitu ukuran zat terlarut (baik itu zat organik maupun anorganik) yang terdapat pada sebuah larutan. Umumnya berdasarkan definisi di atas seharusnya zat yang terlarut dalam air (larutan) harus dapat melewati saringan yang berdiameter 2 mikrometer (2×10^{-6} meter). Aplikasi yang umum digunakan adalah untuk mengukur kualitas cairan biasanya untuk pengairan, pemeliharaan aquarium, kolam renang, proses kimia, dan pembuatan air mineral. Setidaknya, kita dapat mengetahui air minum mana yang baik dikonsumsi tubuh, ataupun air murni untuk keperluan kimia misalnya pembuatan kosmetika, obat-obatan, dan makanan (Weber-Scannell dan Duffy, 2007).

2.9 Penelitian Terdahulu

Penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh para peneliti menjadi salah satu pendukung referensi pada proses pengerjaan penelitian ini seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini :

Tabel 2. Penelitian Terdahulu

Judul	Metode	Hasil
The Effect of pH and NaCl Levels on the Physicochemical and Emulsifying Properties of a Cruciferin Protein Isolate (Cheung *et al*., 2014).	Penelitian ini dilakukan dengan metode hidrolisis enzimatik kimia melalui penambahan enzimatik NaCl.	Secara keseluruhan, diambil kesimpulan bahwasanya sifat karakteriktik dari bahan baku sangat berpengaruh terhadap kandungan protein. Kemudian perlakuan pH dan konsentrasi NaCl sebagai pelarut pada proses ekstrasi protein cacing tanah juga sangat berpengaruh.
Synthesis of Silver Nano Particles Using Piper Betle and Its Antibacterial Activity (Shanmuga *et al*., 2014)	Penelitian ini dilakukan dengan metode hidrolisis enzimatik penambahan enzimatik mikroorganisme.	Hasil penelitian ini sebagian besar akan disarankan bahwa nanopartikel perak yang disintesis secara biologis lebih efektif.
Measurement of Protein Content in Extract of Earthworm (Fauzi et al., 2022).	Melakukan penelitian dengan menggunakan 2 metode pemanasan dan tanpa pemanasan.	Metode yang optimal untuk penetapan kadar protein dalam ekstrak cacing adalah dengan metode pemanasan 40°C selama 5 menit yang menghasilkan deteksi protein yang lebih banyak dibandingkan tanpa pemanasan yaitu sebesar 10,41 ± 0,47 %. Namun, terdapat kelemahan pada penelitian ini yaitu apabila pemanasan terjadi kelebihan suhu maka akan terjadi pemecahan protein sehingga hasil protein kurang optimal.
Optimasi N-Amino dan Total Padatan Terlarut dalam Ekstrasi Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) (Aminah *et al*., 2019)	Melakukan penelitian menggunakan metode enzimatik kimia secara anaerob dengan penambahan NaCl konsentrasi 90 %, 75% dan 80% atau setara dengan 10%, 15% dan 20% bahan baku dan sisanya yakni NaCl.	Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tersebut diperoleh hasil uji Analisa RSM dan design expert adalah bahwa semakin tinggi persentase cacing tanah yang digunakan maka semakin tinggi TPT yang didapatkan. Hal ini disebabkan kandungan yang terdapat dalam bahan dapat larut dalam air. Kemudian diperoleh hubungan waktu inkubasi dan hasil TPT adalah tidak signifikan. Semakin lama waktu inkubasi maka nilai TPT yang didapatkan tidak berubah. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena penggunaan konsentrasi NaCl yang sangat tinggi.