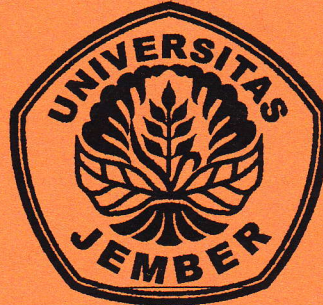


731

KESEHATAN

LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING



**PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA AKTIF
PHRETIMA JAVANICA (HORST) YANG BERPONSE SEBAGAI
ANTIBAKTERI *SHIGELLA DYSENTERIAE***

Peneliti:

Dr. JOKO WALUYO, M.Si

Dr. Isnaeni, M.S

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes

Dr. Eddy Bagus Wasito, MS, SpMK

**Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Tahun Anggaran 2007
Nomer: 040/SP2H/PP/DP2M/III/2007 tertanggal 29 Maret 2007**

**UNIVERSITAS JEMBER
NOPEMBER 2007**

suk 2008

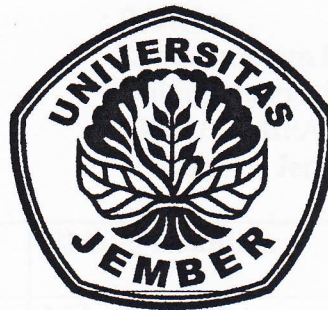
LP. 2007

M

731

KESEHATAN

LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING



**PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA AKTIF
PHRETIMA JAVANICA (HORST) YANG BERPONSIS SEBAGAI
ANTIBAKTERI *SHIGELLA DYSENTERIAE***

Peneliti:

Dr. JOKO WALUYO, M.Si
Dr. Isnaeni, M.S
Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes
Dr. Eddy Bagus Wasito, MS, SpMK

**Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Tahun Anggaran 2007
Nomer: 040/SP2H/PP/DP2M/III/2007 tertanggal 29 Maret 2007**

**UNIVERSITAS JEMBER
NOPEMBER 2007**

ASAL : HADIAH / PEMBELIAN
TERIMA : TOL
NO INDUK :

K.L.A.S


HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

1. Judul Penelitian : Purifikasi dan karakterisasi senyawa aktif *Pheretima javanica* (Horst) yang berpotensi sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae*.
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Dr. Joko Waluyo, M.Si
 - b. Jenis Kelamin : Laki-laki
 - c. N I P : 131 478 930
 - d. Jabatan Fungsional : Pembina
 - e. Jabatan Struktural : Ketua Program P. Biologi
 - f. Bidang Keahlian : Mikrobiologi/Bioteknologi
 - g. Fakultas / Jurusan : FKIP / P.MIPA
 - h. Perguruan Tinggi : Universitas Jember
 - i. Tim Peneliti

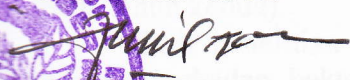
No	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas	Perguruan Tinggi
1.	Dr. Joko Waluyo, M.Si	Mikrobiologi/ Bioteknologi	FKIP	Universitas Jember
2.	Dr. Isnaeni, M.Si	Biologi Molekuler	F. Farmasi	Universitas Airlangga
3.	Dr. Eddy Bagus Wasito, MS, SpMK	Mikrobiologi Klinik	F. Kedokteran	Universitas Airlangga
4.	Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.	Toksikologi	FKIP	Universitas Jember

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
- a. Jangka Waktu Penelitian : 2 [dua] tahun, Tahun 2006 s/d 2007
 - b. Biaya total yang diusulkan :Rp 95.000.000,- [Sembilan puluh lima juta rupiah]
 - c. Biaya yang disetujui tahun kedua :Rp 45.000.000,- [Empat puluh lima juta rupiah]

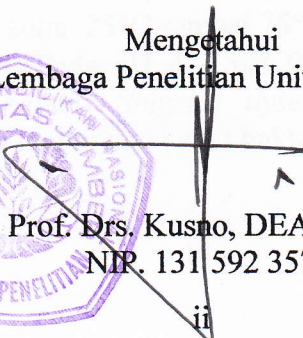
Jember, 5 Nopember 2007
Ketua Peneliti


Dr. Joko Waluyo, M.Si
NIP. 131 478 930

Mengetahui
Dekan FKIP UNEJ


Drs. Imam Muchtar, SH, M.Hum
NIP. 130 810 936

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian Universitas Jember


Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D
NIP. 131 592 357



RINGKASAN

Purifikasi dan karakterisasi senyawa aktif *Pheretima javanica* (Horst) yang berpotensi sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae*

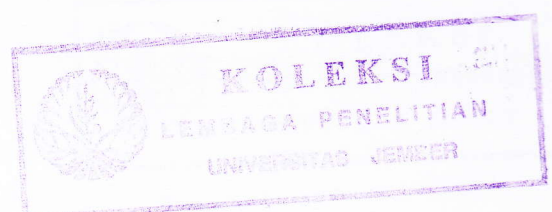
Joko Waluyo

Cacing tanah di masyarakat sudah banyak yang memanfaatkan untuk beberapa macam pengobatan penyakit, diantaranya penyakit demam tifoid, disentri, demam, mag dan lain-lain, tetapi selama ini belum diketahui senyawa aktif apa yang terkandung didalamnya dan bagaimana karakternya dan sifat kerja serta bagaimana mekanisme kerjanya. Ju Hyun dkk. (1998) mengemukakan bahwa antimikroba peptida cacing tanah *Lumbricus rubellus* telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi yang disebut lumbricin I. Lumbricin I merupakan antimikroba peptida yang mengandung prolin 15 % dari total berat kering, dan tersusun dari 62 macam asam amino serta mempunyai berat molekul 7,231 kDa. Sehingga dari latar belakang diatas perlu dilakukan penelitian protein antibakteri dari *Pheretima javanica*.

Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan, memurnikan, mengkarakterisasi, sifat kerja dan mekanisme kerjanya protein *Pheretima javanica* yang berpotensi sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae*. Dengan harapan dapat dikembangkan untuk pengobatan disentri pada khususnya dan penyakit infeksi bakteri lain pada umumnya misalnya tipus dll, sehingga dapat membuka wawasan baru dalam memanfaatkan obat tradisional yang sekarang belum dimanfaatkan secara maksimal.

Untuk mencapai target yang diinginkan maka dilakukan penelitian sebagai berikut: 1] Pembuatan ekstrak dilakukan dengan pelarut MOPS; 2] Uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak *Pheretima javanica* dengan metode difusi agar; 3] Pemisahan dan pemurnian senyawa aktif dari ekstrak *Pheretima javanica* dengan kromatografi kolom DEAE (Anion exchanger), Sephadex-G100 (Filtrasi); HPLC; Cromatofocusing, Pematangan protein pada Gel Native-PAGE (sudah dilakukan pada tahun pertama); 4] Uji potensi aktivitas antibakteri isolat aktif secara in vitro; 5] Karakterisasi meliputi: berat molekul, kandungan asam amino, pH stabilitas dan suhu stabilitas; 6] Konsentrasi Hambatan Minimum dengan difusi agar; 7] Sifat kerja antibakteri, dan 9] Analisis data (pada tahun kedua).

Hasil penelitian pada tahun kedua adalah protein antibakteri dari *Pheretima javanica* terhadap bakteri *S. dysenteriae* mempunyai karakteristik yaitu konsentrasi hambatan minimum pada konsentrasi 20 µg/ml protein, berat molekul 31 kDa dan 34 kDa, mengandung asam amino hidroksiprolin 19,04 %. Protein antibakteri masih tetap aktif setelah dipanaskan pada suhu 25°C sampai 75°C, sedang pada suhu 100 °C sampai 121°C sudah tidak aktif lagi. Pada pH 4 – pH 9 protein antibakteri masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, dengan pH optimum 7. Penentuan. Protein antibakteri mempunyai sifat bakteriosid.



SUMMARY

Purification and characterization active compound of *Pheretima Javanica* (Horst) which have potency to as antibacterial *Shigella dysenteriae*

Joko Waluyo

There is many kind of earthworm family in Indonesia i.e.: *Enchytraeidae*, *Moniligastridae*, *Octochaetidae*, *Glossoscolecidae*, *Megascolecidae*, and *Lumbricidae*. The Species of earthworm commonly found in Java are *P. Javanica*, *Pontoscolex corethrurus*, and *P. capensis*. *P. Javanica* is the member of *Megascolecidae* family. They have a big and long body compared to the others (Waluyo, 1993).

Several research have proved that there are antibacterial activities from earthworm extract of *Lumbricus rubellus* and *Pheretima sp.*; which can inhibit Gram negative bacteria growth, such as *Escherichia coli*, *S. dysenteriae*, *S. aureus* and *S. typhi* (Affandi, 1996 and Muliastari, 1996).

Ju Hyun, et. al (1998) succeeds to isolate and characterize antimicrobial of *L. rubellus* extract and it was called *lumbricin 1*. It is contains amino acid proline about 15% (w/dry weight) and has molecular weight 7.231 kDa. Milochau et. al (1997) isolated and characterized antibacterial protein from coelomic liquid of *Eisenia fetida adrei* that has an antibacterial activity. It is called *fetidin*; which has molecular weight 40,0 kDa and 45,0 kDa.

The aim of this research is to find out a pure protein from earthworms; which has antibacterial activities. Results of research are expected produced novel issues in term of multiply the protein by genetic engineering. On the other hand, it can be developed as the basic materials of alternative medicine for typhus and other infection caused by bacteria. Therefore, it will contribute a new concept for utilization of natural product.

The research has been conducted in several stages, namely Earthworm determination (1), extraction earthworm by using three kinds of solvents (2), Antibacterial activity of extract assessment by agar diffusion method (3), Purification of antibacterial protein by using DEAE chromatography (anion exchanger), filtration column chromatography, and Native-PAGE (4).

The results showed that Minimum Inhibition Concentration of bacteria *Shigella dysenteriae* was 20,0 µg/mL respectively. The antibacterial protein had characteristic in molecular weight 31,0 kDa and 34,0 kDa. It contains 19.04% hydroxyproline, showed heat resistance at 75⁰ C, and has bacterioside.

The result of this research expected to be useful for further research in relation to antibacterial protein from earthworms. Therefore, it is recommended to conduct further research on cloning and applying alternative drug.

