




## Measurement of Protein Content in Extract of Earthworm

Ahmad Fauzi<sup>1</sup>, Wahyu Utami<sup>1</sup>✉, Denny Vitasari<sup>2</sup>, Arifah Sri Wahyuni<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia

✉ [wahyu.utami@ums.ac.id](mailto:wahyu.utami@ums.ac.id)

 <https://doi.org/10.53017/ujhs.136>

Received: 15/02/2022

Revised: 25/03/2022

Accepted: 26/03/2022

### Abstract

*Earthworms are widely used by Indonesian people as an alternative treatment of typhoid fever in addition to the main treatment using antibiotics. One of the main ingredients of earthworms (*Lumbricus rubellus*) is protein. The amount of protein content of the extracts is highly dependent on the production process. For this reason, a spectrophotometric analysis was carried out to determine the protein content of the worm extracts in the market. As a result of the analysis using the Lowry method at a maximum wavelength of 650.8 nm, the protein content of a sample of earthworm extract obtained from the market was (10.41 ± 0.47)%.*

**Keywords:** Earthworm extract; Protein; Lowry Method

## Penentuan Kadar Protein Ekstrak Cacing Tanah

### Abstrak

Cacing tanah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai alternatif pengobatan demam tifoid selain pengobatan utama menggunakan antibiotik. Salah satu kandungan utama dari cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) adalah protein. Kandungan protein pada ekstrak cacing tanah sangat tergantung pada proses produksinya. Untuk itu telah dilakukan analisis spektrofotometri untuk mengukur kadar protein ekstrak cacing yang beredar di pasaran. Dari hasil analisis menggunakan metode Lowry pada panjang gelombang 650,8 nm didapatkan kadar protein dari salah satu sampel ekstrak cacing tanah yang diperoleh di pasaran sebesar (10,41± 0,47) %.

**Kata kunci:** Ekstrak Cacing; Protein ;Metode Lowry

## 1. Pendahuluan

Adanya perubahan paradigma masyarakat yang cenderung lebih memilih pengobatan tradisional menyebabkan meningkatnya kebutuhan masyarakat pada obat-obat tradisional. Semakin banyaknya kasus resistensi pada penggunaan antibiotik juga semakin meningkatkan pilihan masyarakat terhadap pengobatan alternatif. Salah satunya adalah penggunaan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) pengobatan untuk membantu mengobati demam tifoid [1], [2]. Penelitian sebelumnya secara *in vivo*, cacing tanah terbukti dapat mengobati demam tifoid [3], menurunkan panas (antipiretik) [4], antiinflamasi [5], antibakteri terutama bakteri *Salmonella typhi* [6], dan sebagai antioksidan [7]. Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mempunyai kandungan aktif protein yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 58–71% pada cacing yang sudah dikeringkan [8].

Pada perkembangannya, industri obat tradisional memanfaatkan cacing tanah yang disiapkan dalam sediaan kapsul ekstrak dan sudah diproduksi secara massal. Kandungan

protein pada ekstrak cacing sangat dipengaruhi oleh proses produksinya, di mana kualitas protein dapat terpengaruh oleh temperatur dan pH [9], sehingga memungkinkan adanya perbedaan kandungan protein antar produk. Untuk itu perlu dilakukan penentuan kadar protein ekstrak cacing yang beredar di pasaran. Prosedur yang umum digunakan untuk penetapan kadar protein adalah metode Lowry [10]. Pada penelitian ini, kami menggunakan metode Lowry untuk penetapan kadar protein pada salah satu sampel ekstrak cacing.

## 2. Metode

### 2.1. Alat dan Bahan

Reagen Lowry A yang terbuat dari sodium hidroksida, kalium natrium tartrat, dan natrium karbonat diperoleh dari Merck (Jerman). Lowry B yang terdiri dari tembaga (II) sulfat, sodium hidroksida, dan kalium natrium tartrat diperoleh Merck (Jerman). Reagen Lowry C yang terbuat dari reagen Folin-Ciocalteu diperoleh dari Supelco (USA). Standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang diperoleh dari sigma-aldrich (USA) serta sampel kapsul ekstrak cacing merk X.

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Visibel Shimadzu 1280 (Jepang), Kuvet Hellma (USA), dan alat gelas seperti gelas beaker, Erlenmeyer, batang pengaduk, corong diperoleh dari iwaki pyrex (jepang), Memert *Incubator Waterbath* (Jerman), dan Sonikator Branson 1510 (USA).

### 2.2. Penentuan Operating Time dan Panjang Gelombang Maksimal

Untuk penentuan operating time disiapkan baku dengan konsentrasi 5 mg/mL, diambil 1,0 mL supernatan ditambahkan 0,9 mL pereaksi Lowry A dan 0,1 mL pereaksi Lowry B selanjutnya diinkubasi 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 3,0 mL reagen Lowry C. Dilakukan pembacaan setiap 1 menit sampai absorbansi stabil.

Untuk penetapan panjang gelombang maksimal disiapkan baku dengan konsentrasi 5 mg/mL, diambil 1,0 mL supernatan ditambahkan 0,9 mL pereaksi Lowry A dan 0,1 mL pereaksi Lowry B selanjutnya diinkubasi 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 3,0 mL reagen Lowry C. Dilakukan pembacaan pada panjang gelombang 400-800 nm setelah operating time.

### 2.3. Penetapan Kurva Baku

Dibuat larutan stok baku bovine serum albumin (BSA) dengan konsentrasi 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2,5 mg/mL, 1,25 mg/mL dan 0,625 mg/mL. Masing-masing diambil 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam labu takar 5,0 mL. Diambil 1,0 mL baku ditambahkan 0,9 mL pereaksi Lowry A dan 0,1 mL pereaksi Lowry B selanjutnya diinkubasi 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 3,0 mL pereaksi Lowry C dan dibiarkan selama operating time, lalu dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimal. Selanjutnya dilakukan dibuat persamaan kurva baku hubungan antara serapan dengan konsentrasi

### 2.4. Metode Ekstraksi dan Penetapan Kadar Protein Kapsul Cacing.

Ekstraksi protein kapsul cacing dilakukan dengan cara melarutkan dengan air dengan pemanasan dan tanpa pemanasan. Ditimbang 1 gram ekstrak cacing yang sudah dikeluarkan dari kapsul, dilarutkan dalam 10,0 mL dan disonikasi selama 10 menit. Dilakukan 2 variasi suhu pemanasan yaitu tanpa pemanasan dan pemanasan pada suhu 40°C.

Hasil kemudian disaring, diambil 1,0 mL supernatan ditambahkan 0,9 mL pereaksi Lowry A dan 0,1 mL pereaksi Lowry B selanjutnya diinkubasi 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 3,0 mL reagen Lowry C diinkubasi kembali selama 15 menit.

Sampel kemudian dibaca pada spektrofotometer UV-Vis dengan serapan maksimum panjang gelombang 650,8 nm.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Hasil Penentuan Operating Time dan Panjang Gelombang Maksimal

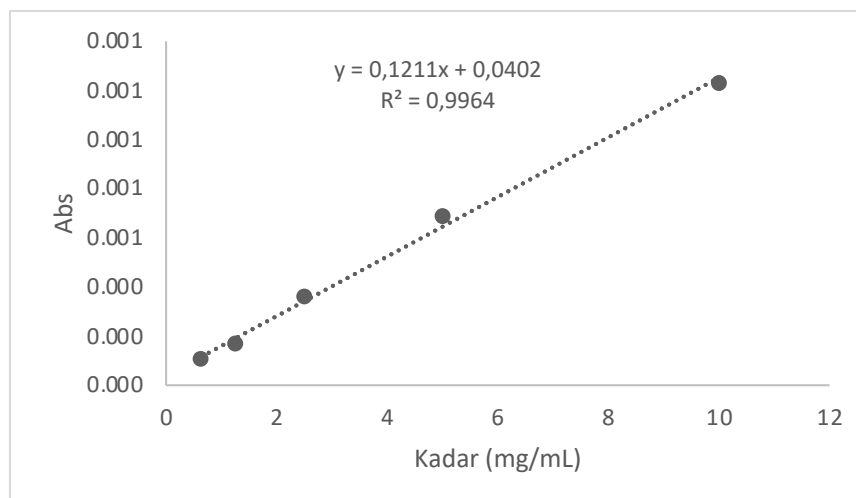
Dari hasil optimasi didapatkan operating time 15 menit ([Tabel 1](#)) dan panjang gelombang maksimal 650,8 nm.

**Tabel 1.** Absorbansi sampel tiap menit

Menit	Abs	Menit	Abs	Menit	Abs
0	0,396	7	0,422	14	0,791
1	0,397	8	0,442	15	0,798
2	0,396	9	0,441	16	0,799
3	0,345	10	0,456	17	0,798
4	0,421	11	0,564	18	0,798
5	0,446	12	0,625	19	0,801
6	0,439	13	0,733	20	0,781

#### 3.2. Hasil Penetapan Kurva Baku

Hasil penentuan kurva baku didapatkan persamaan kurva baku  $y=0,1211x+0,0402$  dengan  $R^2 = 0,9964$  ([Gambar 1](#)).



**Gambar 1.**  
Kurva Baku  
BSA

#### 3.3. Ekstraksi dan Penetapan Kadar Ekstrak Cacing

Ekstraksi kapsul cacing dilakukan dengan dua metode yaitu tanpa pemanasan dan pemanasan suhu 40°C. Pemilihan suhu ini didasarkan bahwa protein mudah terdegradasi pada suhu diatas 70°C [11], [12]. Sampel yang digunakan adalah kapsul merk x sebanyak 60 kapsul dengan nomor batch yang sama. Pemilihan sampel dengan nomor batch sama artinya sampel diproduksi dengan proses dan waktu yang sama, sehingga dapat mengurangi bias dalam penetapan kadar protein kapsul ekstrak cacing. Hasil penetapan kadar ditunjukkan pada [Tabel 2](#).

**Tabel 2.** Hasil Ekstraksi Protein Kapsul Cacing

Metode Ekstraksi	Kadar (%)	Rata-rata (%)
Tanpa Pemanasan	3,34	3,392 ± 0,05
	3,39	
	3,45	
Pemanasan 40°C	10,7	10,41 ± 0,47
	9,87	
	10,72	

**Tabel 2** menunjukkan bahwa metode dengan pemanasan 40°C selama 5 menit memberikan hasil yang lebih besar yaitu sebesar  $10,41 \pm 0,47$  %. Hal ini disebabkan karena pada metode tanpa pemanasan, protein belum terekstraksi sempurna karena banyak yang masih terhalang oleh matriks dari ekstrak. Pada metode pemanasan suhu 40°C jumlah protein terdeteksi semakin bertambah. Dengan adanya sumber panas, protein yang tertahan dalam matriks ekstrak cacing dapat terekstraksi dengan baik.

Selanjutnya dilakukan uji t dengan nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) untuk membandingkan antara metode ekstraksi. Hasil uji statistik menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara metode ekstraksi. Sehingga disimpulkan metode ekstraksi dengan air pada suhu 40°C selama 5 menit merupakan metode yang optimal dalam preparasi penetapan kadar protein dalam ekstrak cacing.

## 4. Kesimpulan

Metode yang optimal untuk penetapan kadar protein dalam kapsul ekstrak cacing adalah dengan metode pemanasan 40°C selama 5 menit yang menghasilkan deteksi protein yang lebih banyak dibandingkan tanpa pemanasan yaitu sebesar  $10,41 \pm 0,47$  %.

## Referensi

- [1] M. L. Prabha and S. Shathya, "Earthworm-An alternative approach to biomedicine," *Int J Curr Sci*, vol. 13, pp. 6–8, 2014.
- [2] E. L. Cooper et al., "Earthworms dilong: Ancient, inexpensive, noncontroversial models may help clarify approaches to integrated medicine emphasizing neuroimmune systems," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/164152.
- [3] J. Waluyo, D. Wahyuni, and W. S. Utami, "Healing effects of fresh earthworms (*Pheretima Javanica* K.) for typhoid fever induced in male white rat (*Rattus norvegicus* L.)," *International Journal of Recent Technology and Engineering*, vol. 8, no. 2, pp. 2012–2014, 2019, doi: 10.35940/ijrte.B2074.078219.
- [4] J. Waluyo, D. Wahyuni, and N. Nuri, "Antipyretic effects of dried earthworm (*Pheretima Javanica* K.) In male white rat (*Rattus Norvegicus*) with typhoid fever," *International Journal of Scientific and Technology Research*, vol. 8, no. 8, pp. 243–246, 2019.
- [5] N. W. S. Dewi and A. N. Mahendra, "The in-vivo anti-inflammatory effect of red earthworm (*Lumbricus rubellus*) ethanolic extract from organic farmland in Bali, Indonesia," *Bali Medical Journal*, vol. 9, no. 3, pp. 545–548, 2020, doi: 10.15562/bmj.v9i3.1788.
- [6] N. Ayuwardani and A. A. Susliowati, "Antibacterial Activity of Salmonella Typhi in Combination of Earth-Worms Extract (*Lumbricus rubellus*) and Turmeric Rhizoma Extract (*Curcuma Longa* L.) In Vitro Novi," *Aloha International Journal of Health Advancement (AIJHA)*, vol. 2, no. 4, pp. 76–79, 2019.
- [7] D. P. G. P. Samatra et al., "Extract of earthworms (*Lumbricus rubellus*) reduced malondialdehyde and 8-hydroxy-deoxyguanosine level in male wistar rats infected by salmonella typhi," *Biomedical and Pharmacology Journal*, vol. 10, no. 4, pp. 1765–1771, 2017, doi: 10.13005/bpj/1290.
- [8] Z. Sun and H. Jiang, "Nutritive Evaluation of Earthworms as Human Food," *Future Foods*, 2017, doi: 10.5772/intechopen.70271.
- [9] S. Khairunnisa, E. M. Hidayat, and R. Herardi, "Hubungan Jumlah Leukosit dan Persentase Limfosit terhadap Tingkat Demam pada Pasien Anak dengan Demam Tifoid di RSUD Budhi Asih Tahun 2018 – Oktober 2019," *Seminar Nasional Riset Kedokteran (SENSORIK)*, pp. 60–69, 2020.
- [10] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, "Protein measurement with the Folin phenol reagent.," *The Journal of biological chemistry*, vol. 193, no. 1, pp. 265–275, 1951, doi: 10.1016/s0021-9258(19)52451-6.
- [11] F. Huang, M. Huang, X. Xu, and G. Zhou, "Influence of heat on protein degradation, ultrastructure and eating quality indicators of pork," *Journal of the Science of Food*

- and *Agriculture*, vol. 91, no. 3, pp. 443–448, 2011, doi: 10.1002/jsfa.4204.
- [12] Q. Jiang, J. Han, P. Gao, L. Yu, Y. Xu, and W. Xia, “Effect of heating temperature and duration on the texture and protein composition of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) muscle,” *International Journal of Food Properties*, vol. 21, no. 1, pp. 2110–2120, 2018, doi: 10.1080/10942912.2018.1489835.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

---