

## Optimasi Kadar N-Amino Dan Padatan Terlarut Total Pada Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) Dengan Kajian Konsentrasi Garam Dan Waktu Inkubasi

### *Optimization of N-Amino and Total Dissolved Solids in Earthworm Extract (*Lumbricus rubellus*) with Study of Salt Concentration and Incubation Time*

Halimatus Sadiyah, Nur Hidayat dan Nur Lailatul Rahmah

Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fak Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya

Email: [halimatus.sadiyah.b@gmail.com](mailto:halimatus.sadiyah.b@gmail.com)

#### ABSTRAK

Metode yang digunakan adalah hidrolisis biokimia yang mengandalkan aktivitas enzim dari mikroorganisme. Penelitian ini menggunakan *Response Surface Methodology* dalam analisis dengan 2 faktor yang mempengaruhi kelarutan protein yaitu waktu inkubasi (pelarutan) (2, 4, 6 hari) dan pelarut (larutan garam berkonsentrasi) (2%, 4%, 6%) dengan konsentrasi bahan utama (cacing tanah) sebesar 15%. Solusi optimal penelitian ini yaitu pada konsentrasi garam 6% dengan waktu inkubasi selama 6 hari. Hasil verifikasi yang dilakukan menghasilkan nilai respon N-amino sebesar 0,84% dan respon Padatan Terlarut Total sebesar 65 g/L dengan desirability 0,821. Respon N-amino membentuk model kuadratik dan respon Padatan Terlarut Total membentuk model 2FI dengan persamaan variabel sebenarnya  $Y = -2,262 + 13,354 X_1 + 2,654 X_2 - 0,938 X_1 X_2$ .

**Kata Kunci:** N-amino, Padatan Terlarut Total, RSM

#### ABSTRACT

*This research used Response Surface Methodology (RSM) with 2 factors that affect solubility of proteins such as incubation time (dissolving time) (2, 4, 6 days) and solvent (salt solution (2%, 4%, 6%) and the concentration of main ingredients (earthworms) is 15%. The optimal solution in this research is on 6% of salt concentration and 6 days of incubation time. The results of the verification conducted yielded value of N-amino 0.84% and total dissolved solids 65 g/L with 0.821 desirability point. N-amino and the total dissolved solids deviation in a sequence are 5.95% and 7.63%. N-amino has quadratic model and total dissolved solids has 2FI model with the actual variable equation  $Y = -2.262 + 13.354 x_1 + 2.654 x_2 - 0.938 x_1 x_2$ .*

**Key words:** N-amino, Total Dissolved Solid, RSM

#### PENDAHULUAN

Cacing tanah merupakan komoditi ekspor yang mendapat respon baik dari petani maupun pengusaha (Palungkung, 2010). Produksi cacing tanah di Malang dari seorang peternak mencapai 3-4 ton per bulan (Maulida, 2015). Di Indonesia, jenis *Lumbricus rubellus* paling banyak dibudidayakan (Palungkung, 2010). Cacing tanah (*L. rubellus*) sangat

potensial untuk dikembangkan karena kandungan gizinya cukup tinggi yaitu terdiri dari protein (64-76%), lemak (7-10%), kalsium (0,55%), fosfor (1%), dan serat kasar (1,08%) (Palungkung, 2010). Kandungan protein yang tinggi menjadikan cacing tanah (*L. rubellus*) banyak dimanfaatkan sebagai aditif pakan ternak ayam (Julendra, 2010) dan penyuburkan tanah melalui

vermikompos (Sharma et al., 2005). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan protein cacing dapat lebih dimanfaatkan selain dalam bentuk segar. Pemanfaatan yang dapat dilakukan salah satunya adalah mengekstrak kandungan protein cacing tanah (*L. rubellus*).

Ekstraksi protein dapat dilakukan dengan hidrolisis protein. Hidrolisis protein ada dua, yaitu secara enzimatis (hidrolisis biokimia) dan pemecahan ikatan peptida dalam kondisi asam atau basa kuat (hidrolisis kimia). Hidrolisis biokimia menggunakan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau bahan. Hidrolisis protein secara enzimatis didapatkan dengan melakukan perendaman pada NaCl dan dilakukan dialisis dengan air (Cheung dan Wanasundara, 2014). Metode hidrolisis biokimia merupakan metode yang sederhana karena mengandalkan aktivitas enzim dari mikroorganisme sehingga dapat menghemat biaya operasional dibandingkan hidrolisis kimia (Soeka dkk, 2008). Menurut Seo et al. (2016), proses ini memanfaatkan enzim, mikroorganisme, dan proses perpindahan senyawa sehingga dapat menghasilkan senyawa yang akan diambil. Menurut Soeka dkk (2008), pelarutan protein secara anaerob melibatkan aktivitas enzim yang dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, pH, dan lamanya reaksi. Menurut Kramer et al. (2012), faktor lain yang mempengaruhi kelarutan protein yaitu kekuatan ion, suhu, dan pelarut tambahan. Untuk mendapatkan ekstrak yang optimal maka perlu dilakukan pengoptimalan terhadap faktor-faktor yang mempengaruhi.

Faktor yang mempengaruhi adalah konsentrasi garam. Suliman et al. (2006) menunjukkan bahwa proses pelarutan dipengaruhi oleh pH dan konsentrasi NaCl. Hal ini berkaitan

dengan proses salting-in dan salting-out. Menurut Maqueda et al. (2013), salting-in terjadi saat konsentrasi garam yang digunakan rendah, sehingga akan meningkatkan kelarutan protein dalam larutan garam. Faktor lainnya yang mempengaruhi adalah waktu inkubasi. Menurut Shao et al. (2013), waktu memberikan hubungan terhadap hasil kelarutan berupa pola naik turunnya ekstrak, pada beberapa hari pertama ekstrak yang dihasilkan akan menurun, kemudian meningkat dan menurun di hari terakhir. Menurut Istiqomah (2014), semakin lama waktu inkubasi maka semakin besar kadar N-aminonya dan akan mengalami penurunan kelarutan setelah mencapai kondisi optimum.

Faktor konsentrasi garam dan waktu inkubasi di atas dapat dilakukan optimasi untuk menghasilkan ekstrak protein yang optimal. Hatta dkk (2006) menunjukkan bahwa waktu inkubasi yang paling optimal pada kisaran hari ke 0 hingga hari ke 3, namun pada hari ke 7 perbedaan tidak berbeda jauh. Kadar NaCl yang digunakan yaitu sebesar 2%. Menurut Suliman et al. (2006), faktor terbaik pada kisaran pH 5-12 dan konsentrasi NaCl 0,2-0,6 M. Handayani dkk (2007) menunjukkan bahwa kadar gugus amino bebas meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi NaCl hingga 15% b/b. Penelitian ini akan mempelajari tentang faktor konsentrasi garam dan waktu inkubasi yang mempengaruhi proses pelarutan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) secara anaerob.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian, yaitu cacing tanah *Lumbricus rubellus* segar dari peternak cacing di Desa Gading Kulon,

Kecamatan Dau, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Bahan lainnya yaitu akuades (teknis), garam kasar tanpa yodium (lokal), dan alkohol 70% (teknis). Bahan yang digunakan dalam pengamatan, yaitu alkohol 70% (teknis), akuades (teknis), larutan fenolftalein (PP) 1% (teknis), NaOH (teknis), larutan formaldehid (teknis), MRSA (*Oxoid*), pepton (*Merck*), dan kertas saring No. 40 (*Whatman*).

#### **Alat**

Alat yang digunakan dalam, yaitu *glassware*, toples plastik ukuran 550 mL (*FoxPet*), selang plastik (*HuizhongPlastic*), blender (*Airlux*), timbangan digital (*Sartorius*), gelas ukur (*Pyrex*), pengaduk (Lokal), cawan porselin (lokal), oven listrik (*Kirin*), pipet tetes (lokal), buret (*Pyrex*), inkubator (*MemmertChurt*), desikator (lokal), dan corong (*Reidko*). Alat analisis data hasil yang digunakan yaitu *Desain Expert 10.0.1 Trial Version*.

#### **Rancangan Percobaan dan Analisis data**

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Komposit Terpusat (*Central Composite Design*), sesuai dengan metode Respon Permukaan dua faktor maka terdapat 13 kali percobaan dengan nilai  $\alpha$  yaitu  $\pm 1,414$ . Konsentrasi garam (X1) yang digunakan yaitu 2, 4, dan 6 % b/v. Waktu pelarutan (inkubasi) yang digunakan yaitu 2, 4, dan 6 hari. Respon pada penelitian ini ada 2 yaitu N-amino dan padatan terlarut total.

#### **Tahapan Penelitian**

Tahapan pelaksanaan penelitian terdiri dari pembuatan reaktor, pembuatan jus cacing, proses pelarutan protein (inkubasi jus cacing), dan pengujian. Pada pengujian ada beberapa yang diujikan yaitu N-amino dan padatan terlarut total.

#### **a. Pembuatan reaktor**

Proses pembuatan reaktor yaitu dengan membersihkan toples volume 550 mL dan tutup plastik. Tutup toples yang telah dilubangi  $\frac{1}{2}$  cm sebanyak dua buah. Kemudian, selang plastik sepanjang 15 cm dipasangkan ke dalam dan lainnya ke luar. Pada bagian badan toples dipasangkan tabung reaksi 10 mL dan direkatkan dengan lem PVC. Toples dan tutup plastic diaseptiskan dengan alkohol 70%.

#### **b. Pembuatan jus cacing tanah**

Proses pembuatan jus cacing tanah (*L. rubellus*), yaitu membersihkan cacing tanah dari kotoran dan tanah dengan cara diletakan dibawah sinar matahari untuk beberapa saat. Cacing tanah dicuci hingga tanah dan kotoran yang melekat pada cacing bersih, kemudian ditimbang seberat 90 gram (15% dari 600 ml) sebanyak 13 kali. Cacing tanah dihaluskan dengan blender selama 2 menit dengan kecepatan medium. Garam ditimbang seberat 12 gram (2%) sebanyak 2 kali, 24 gram (4%) sebanyak 7 kali, 36 gram (6%) sebanyak 2 kali, 7,032 gram (1,172%) sebanyak 1 kali, dan 40,968 gram (6,828%) sebanyak 1 kali, kemudian dilarutkan dengan akuades secukupnya hingga larut ( $\pm 10-20$  mL akuades). Cacing tanah yang telah dihaluskan dicampur dengan larutan garam dan ditambahkan akuades hingga volume mencapai 600 ml dan diaduk.

#### **c. Proses pelarutan cacing tanah**

Proses pelarutan cacing tanah sebagai proses pelarutan protein, yaitu jus cacing tanah 550 ml dimasukan ke reaktor, kemudian diberi label sesuai dengan waktu inkubasi, konsentrasi garam. Reaktor ditutup dengan tutup toples, lubang selang ditutup dengan plastisin untuk membuat kondisi anaerob, bagian pinggir tutup toples

ditutup dengan lem bakar dan selotip untuk menutup cela udara dari tutup toples, selang kedua dimasukkan ke tabung reaksi berisi air dengan desinfektan untuk melihat udara yang keluar dan keadaan telah anaerob. Reaktor disimpan pada tempat yang telah diaseptiskan pada suhu ruang selama waktu inkubasi 1 hari 4 jam 8 menit (1,172 hari), 2 hari, 4 hari, 6 hari, dan 6 hari 19 jam 53 menit (6,828 hari), banyaknya reaktor sesuai dengan kombinasi komposit terpusat, kemudian pada waktu yang telah ditentukan sampel akan diambil dari reaktor sebanyak yang diperlukan setiap ujinya. Larutan sampel disaring dengan kertas saring untuk memisahkan padatan dan ekstrak.

d. Uji padatan terlarut total (SNI 06-6989.27-2005)

Tahapan pengujian padatan terlarut total, yaitu sampel uji diukur 50-100 mL, dimasukkan ke dalam alat penyaring dengan kertas saring. Hasil saringan diambil sebanyak 10-20 mL. Hasil saringan dipindahkan ke cawan dengan berat tetap, kemudian diuapkan hingga kering. Cawan dengan sampel kering dipanaskan pada oven suhu  $180^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 1$  jam. Cawan didinginkan dalam desikator, dan kemudian cawan segera ditimbang dengan neraca analitik. Perhitungan dilakukan dengan rumus, sebagai berikut,

$$\text{Padatan Terlarut Total } \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{(B - A) \times 10^3}{\text{mL contoh}}$$

Keterangan:

A = berat tetap (g) cawan kosong setelah pemanasan  $180^{\circ}\text{C}$ ;

B = berat tetap (g) cawan berisi padatan terlarut total setelah pemanasan  $180^{\circ}\text{C}$ .

e. Uji protein terlarut (N-amino) (Morais et al., 2013)

Tahapan pengujian N-amino, yaitu dengan menyaring hasil pelarutan untuk dijadikan sampel pengujian. Sampel

diukur dengan gelas ukur sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlemeyer, kemudian ditetesi indikator PP 1% sebanyak 1-3 tetes. Sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Sampel yang telah dititrasi ditambahkan larutan formol (formaldehid) 1 mL dan diamkan selama 5 menit, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda.

Perubahan volume dicatat dan dilakukan perhitungan dengan rumus sebagai berikut,

$$\text{Titration formol} = A \text{ sampel} - B \text{ blanko}$$
$$\text{Namino (\%)} = \frac{\text{titrasi} \times N \times 14,008}{\text{berat sampel} \times 10} \times 100\%$$

Keterangan,

A = ml NaOH sampel

B = ml NaOH blanko

N = N NaOH (0,1 N)

### Analisis Data

Pengolahan data hasil penelitian (total protein (N-amino) dan padatan terlarut total) menggunakan program *Design Expert 10.0.1 Trial Version*. Data dimasukkan dalam rancangan komposit terpusat 2 faktor dengan 2 respon, yaitu total protein (nilai formol) dan total padatan terlarut.

### Verifikasi Hasil Optimal

Hasil solusi optimal diverifikasi dengan cara melarutkan cacing tanah (*L. rubellus*) sesuai perlakuan optimal hasil prediksi permukaan respon dan dilakukan pengujian terkait total protein terlarut (N-amino) dan padatan terlarut total. Hasil tersebut dibandingkan antara nilai prediksi permukaan respon yang didapat dengan nilai aktualnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Respon N – Amino

Kadar N-amino hasil dari pelarutan protein cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dengan faktor konsentrasi garam dan waktu inkubasi

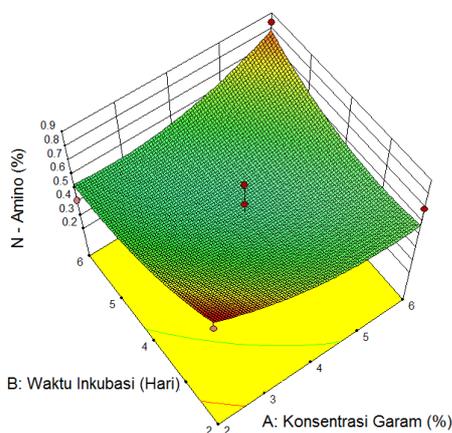
berkisar antara 0,28% sampai dengan 0,84 (Tabel 1).

Hasil plot (Gambar 1) menunjukkan bahwa faktor konsentrasi dan waktu memiliki hubungan satu sama lain dalam proses pelarutan cacing

tanah. Interaksi antara faktor konsentrasi garam dan waktu inkubasi (pelarutan) ditunjukkan dengan adanya kenaikan dan penurunan dalam grafik yang dihasilkan.

**Tabel 1.** Variabel bebas dan pengkodean pada rancangan komposit terpusat

No	Variabel Kode		Variabel Sebenarnya		Respon	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	G: Konsentrasi Garam (%)	W: Waktu Inkubasi (Hari)	Nilai Formol (N-amino) (%)	Total Padatan terlarut (mg/L)
1	-1	1	2	2	Y <sub>11</sub>	Y <sub>21</sub>
2	1	1	6	2	Y <sub>12</sub>	Y <sub>22</sub>
3	-1	1	2	6	Y <sub>13</sub>	Y <sub>23</sub>
4	1	1	6	6	Y <sub>14</sub>	Y <sub>24</sub>
5	-1,414	0	1,172	4	Y <sub>15</sub>	Y <sub>25</sub>
6	1,414	0	6,828	4	Y <sub>16</sub>	Y <sub>26</sub>
7	0	-1,414	4	1,172	Y <sub>17</sub>	Y <sub>27</sub>
8	0	1,414	4	6,828	Y <sub>18</sub>	Y <sub>28</sub>
9	0	0	4	4	Y <sub>19</sub>	Y <sub>29</sub>
10	0	0	4	4	Y <sub>110</sub>	Y <sub>210</sub>
11	0	0	4	4	Y <sub>111</sub>	Y <sub>211</sub>
12	0	0	4	4	Y <sub>112</sub>	Y <sub>212</sub>
13	0	0	4	4	Y <sub>113</sub>	Y <sub>213</sub>



**Gambar 1** Plot tiga dimensi respon permukaan N - amino

Proses pelarutan pada penelitian ini menentukan banyaknya N-amino yang dihasilkan, karena dalam pelarutan cacing tanah yang dilakukan terjadi 2 proses yaitu hidrolisis protein dan salting-in. Proses yang terjadi pertama adalah hidrolisis, yaitu pemecahan

ikatan peptida dari protein kompleks menjadi molekul sederhana yang menghasilkan asam amino dan peptida. Hidrolisis meningkatkan kelarutan karena ikatan protein menjadi bermuatan ( $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$ ) serta berat molekul protein berkurang (Haslaniza et al., 2010). Hasil dari proses hidrolisis akan mengalami salting-in, yaitu peningkatan kelarutan protein dan asam amino pada larutan garam berkonsentrasi rendah atau tidak jenuh (Handayani dkk, 2007). Dari proses salting-in ini diharapkan dapat melarutkan asam amino yang terhidrolisis dalam larutan garam sehingga dapat dihitung menjadi N-amino (%). Kelarutan protein akan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi garam yang digunakan, namun pada konsentrasi garam jenuh akan menyebabkan pengendapan protein dan asam amino.

Faktor konsentrasi garam, berkaitan dengan proses pemecahan protein (hidrolisis protein) dan reaksi kelarutan protein pada larutan (salting-in) hingga menjadi asam amino bebas. Menurut Yasothai dan Giriprasad (2015), kelarutan protein (salting-in) meningkat seiring dengan kekuatan ion yang meningkat karena banyak dari ion-ion anorganik yang terhidrasi membentuk ikatan dengan permukaan protein. Selain konsentrasi garam, waktu inkubasi juga mempengaruhi, Anggraini dan Yunianta (2015) menyebutkan bahwa semakin lama waktu inkubasi maka akan semakin banyak protein terhidrolisis menjadi asam amino bebas, sehingga akan semakin meningkatkan kadar N-amino. Dari penjelasan tersebut diduga bahwa penyebab respon N-amino memiliki hasil tidak berbeda nyata karena adanya protein yang tidak terhidrolisis sehingga asam amino yang dihasilkan sedikit. Oleh karena itu, pada uji N-amino menghasilkan data yang tidak teratur dan secara statistik data dianggap tidak memiliki perbedaan. Selain itu, diduga pula terjadi pengendapan protein dan asam amino sehingga protein dan asam amino yang larut dalam larutan garam berkurang.

Faktor lain yang diduga mempengaruhi hasil N-amino yaitu faktor mikroorganisme yang tidak dikendalikan dalam penelitian ini. Mikroorganisme ini diduga berasal dari cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). Shweta (2012) menunjukkan bahwa mikroorganisme cacing tanah dalam kondisi anaerob adalah bakteri. Menurut Putra dkk (2015) di dalam cacing tanah terdapat bakteri selulolitik, amilolitik, dan proteolitik. Pada penelitian ini juga menunjukkan keberadaan mikroorganisme pada ekstrak cacing tanah yang dihasilkan. Mikroorganisme yang tumbuh membutuhkan nutrisi,

salah satu sumber nutrisi yaitu berasal dari hasil penelitian ini (asam amino). Menurut Nisa dkk (2008), mikroorganisme membutuhkan asam amino dan peptida sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan. Keberadaan mikroorganisme ini menyebabkan hasil dari N-amino menjadi bias dan data menjadi tidak berbeda nyata karena diduga sebagian dari asam amino hasil hidrolisis di konsumsi oleh mikroorganisme dan tidak dihitung sebagai kadar N-amino pada respon.

Pertumbuhan mikroorganisme pada ekstrak cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) menunjukkan bahwa ekstrak cacing tanah dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh mikroorganisme. Govindarajan dan Prabaharan (2014) menyebutkan bahwa tubuh cacing tanah dianggap sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme. Adianto dkk (2004) menyebutkan bahwa saluran pencernaan cacing mengeluarkan bahan organik dan ammonia yang tergradasi, sehingga dapat menjadi substrat yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme.. Kandungan ekstrak cacing ini yang berfungsi sebagai sumber nutrisi mikroorganisme. Selain itu, ekstrak cacing tanah dimanfaatkan sebagai zat aditif media pertumbuhan tanaman, campuran pakan ternak (Sari dkk, 2014) dan vermikompos (Sharma et al., 2005), karena kandungan enzim dan hormon yang ada pada cacing tanah.

#### **Respon Padatan Terlarut Total**

Kadar padatan terlarut total hasil dari pelarutan protein cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dengan faktor konsentrasi garam dan waktu inkubasi (Tabel 1) berkisar antara 20,5 g/L sampai dengan 74 g/L. Hubungan penambahan garam dan lama waktu inkubasi terhadap respon N-amino menunjukkan yang hasil signifikan,

artinya terdapat interaksi antar faktor atau faktor memiliki pola yang sama.

Pengaruh penambahan garam dan lama waktu inkubasi terhadap respon padatan terlarut total digambarkan dalam plot tiga dimensi permukaan respon (Gambar 2). Analisis ragam (ANOVA) menghasilkan persamaan:  
$$Y = -2,262 + 13,354 X_1 + 2,654 X_2 - 0,938 X_1X_2$$

Keterangan:

Y = Padatan terlarut total

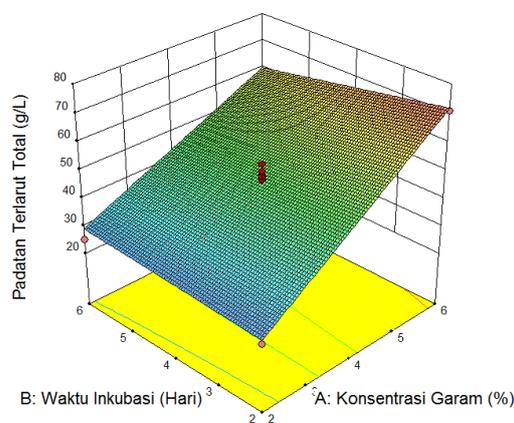
X<sub>1</sub> = Konsentrasi garam

X<sub>2</sub> = Waktu Inkubasi.

Hasil penelitian untuk respon padatan terlarut total menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi garam dan waktu inkubasi memberikan perubahan yang signifikan terhadap padatan terlarut yang dihasilkan. Faktor konsentrasi garam mempengaruhi karena semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar padatan terlarut yang dihasilkan. Menurut Olivianti (2012), padatan terlarut total akan meningkat seiring dengan penambahan garam. Suliman et al. (2006) menyatakan bahwa garam memiliki sifat menarik air bahan yang direndam, air yang keluar dari dalam bahan akan membawa molekul-molekul protein yang terlarut dalam air maupun yang terlarut dalam larutan garam, sehingga dihitung sebagai padatan terlarut total. Pada penelitian ini hasil tertinggi pada konsentrasi garam 6% yaitu 74 g/L dan terendah pada konsentrasi garam 1,172% yaitu 20,5 g/L, seperti ditunjukkan pada plot (Gambar 2) semakin tinggi konsentrasi garam maka semakin tinggi pula padatan terlarut yang dihasilkan.

Hasil penelitian untuk respon padatan terlarut total menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi garam dan waktu inkubasi memberikan perubahan yang signifikan terhadap padatan terlarut yang dihasilkan. Faktor

konsentrasi garam mempengaruhi karena semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar padatan terlarut yang dihasilkan. Menurut Olivianti (2012), padatan terlarut total akan meningkat seiring dengan penambahan garam. Suliman et al. (2006) menyatakan bahwa garam memiliki sifat menarik air bahan yang direndam, air yang keluar dari dalam bahan akan membawa molekul-molekul protein yang terlarut dalam air maupun yang terlarut dalam larutan garam, sehingga dihitung sebagai padatan terlarut total. Pada penelitian ini hasil tertinggi pada konsentrasi garam 6% yaitu 74 g/L dan terendah pada konsentrasi garam 1,172% yaitu 20,5 g/L, seperti ditunjukkan pada plot (Gambar 2) semakin tinggi konsentrasi garam maka semakin tinggi pula padatan terlarut yang dihasilkan.



**Gambar 2.** Plot tiga dimensi respon permukaan padatan terlarut total

Faktor waktu inkubasi juga mempengaruhi banyaknya hasil padatan terlarut. Menurut Nasir dkk (2009) lamanya waktu pelarutan mempengaruhi hasil yang diperoleh, semakin lama waktu pelarutan maka semakin lama juga waktu kontak antara pelarut dengan bahan baku sehingga semakin banyak padatan terlarut yang dihasilkan. Namun, pada plot (Gambar

2) terlihat bahwa kenaikan dan penurunan pada faktor waktu inkubasi terhadap padatan terlarut cenderung konstan. Hal ini menunjukkan bahwa faktor konsentrasi garam memberikan pengaruh yang besar dibandingkan dengan faktor waktu inkubasi terhadap respon padatan terlarut total yang dihasilkan.

Hasil penelitian respon padatan terlarut total menunjukkan hasil yang tidak sebanding dengan hasil respon N-amino. Hal ini terjadi karena adanya peran mikroba yang tumbuh dan berkembang, sehingga dibutuhkan adanya nutrisi dari asam amino bebas yang dihasilkan. Menurut Nisa dkk

(2008), mikroorganisme membutuhkan asam amino dan peptida sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya. Selain itu, menurut Sintasari dkk (2014), komponen yang terlarut pada padatan terlarut terdiri dari total gula, pigmen, asam organik, dan protein. Berdasarkan uraian tersebut bahwa selain adanya faktor mikroorganisme yang mengkonsumsi protein dan asam amino bebas, diduga juga pada proses pelarutannya, senyawa-senyawa lain seperti karbohidrat, lemak, vitamin terlarut lebih banyak dari pada protein dan asam amino bebasnya.

**Tabel 2.** Batasan optimasi untuk respon penelitian

Nama	Tujuan	Batas Bawah	Batas Atas
Konsentrasi Garam (%)	<i>Is in range</i>	2	6
Waktu Inkubasi (Hari)	<i>Is in range</i>	2	6
N – amino (%)	<i>Maximize</i>	0,28	0,84
Padatan terlarut total (g/L)	<i>Maximize</i>	20,5	74

### Optimasi

Optimasi ini dilakukan untuk mengoptimalkan respon-respon yang digunakan, yaitu N–amino dan padatan terlarut total dalam batasan konsentrasi garam dan waktu inkubasi yang telah ditentukan. Kriteria pengoptimalan respon disesuaikan dengan batasan-batasan optimasi (Tabel 2) hingga dihasilkan solusi optimal hasil komputasi yang terpilih (Tabel 3).

**Tabel 3.** Solusi optimal hasil komputasi

Parameter	Standar Prediksi
Konsentrasi Garam (%)	6,000
Waktu Inkubasi (Hari)	6,000
N – amino (%)	0,79
Padatan terlarut total (g/L)	60,4
<i>Desirability</i> (Ketepatan)	0,821
Keterangan	Selected

**Tabel 3** menunjukkan bahwa perlakuan optimal pada konsentrasi garam 6% dengan waktu inkubasi selama 6 hari. Dengan kombinasi faktor tersebut diprediksi akan menghasilkan

N-amino sebesar 0,79% dan padatan terlarut total sebesar 60,04 g/L. Nilai desirability solusi hasil komputasi sebesar 0,821.

### Verifikasi Kondisi Optimum Hasil Prediksi Model

Verifikasi model diperlukan untuk menguji keakuratan model dalam menggambarkan kondisi empiris. Verifikasi dilakukan dengan membandingkan hasil perlakuan terbaik berdasarkan model dengan hasil penelitian. Perbandingan prediksi model dan verifikasi (Tabel 4) menunjukkan hasil verifikasi respon N-amino dan padatan terlarut total berada di atas nilai prediksi namun tidak lebih dari prediksi tertinggi. Hasil yang diperoleh telah sesuai dengan hasil prediksi secara komputasi.

### KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan solusi optimal pada konsentrasi garam 6% dengan waktu inkubasi selama 6 hari. Hasil verifikasi yang dilakukan menghasilkan N-amino sebesar 0,84% dan padatan terlarut total sebesar 65 g/L dengan desirability 0,821. Respon

padatan terlarut total membentuk persamaan  $Y = -2,262 + 13,354 X_1 + 2,654 X_2 - 0,938 X_1X_2$ . Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak cacing dapat dimanfaatkan menjadi media tumbuh mikroorganisme yang dapat menggantikan media tumbuh dari bahan lain.

**Tabel 4.** Perbandingan prediksi model dan hasil penelitian kondisi optimum

Parameter	Prediksi Terendah	Prediksi	Prediksi Tertinggi	Hasil Prediksi	% Simpangan
N – amino (%)	0,32	0,79	1,26	0,84	5,95
Padatan terlarut total (g/L)	50,92	60,04	69,15	65	7,63

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya atas biaya dana PNBP Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya berdasarkan Surat Perjanjian No. 1711/UN10.10/PG/2016.

### DAFTAR PUSTAKA

Adianto, Diah, U. S., Nuryati, Y. 2004. **Pengaruh Inokulasi Cacing Tanah (*Pontoscolex corethrurus* Fr Mull) Terhadap Sifat Fisika Kimia Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.Wilczek) Varietas Walet.** Jurnal Matematika dan Sains 9 (1): 175-182.

Anggraini, A., dan Yuniarta. 2015. **Pengaruh Suhu dan Lama Hidrolisis Enzim Papain Terhadap Sifat Kimia, Fisik, dan Organoleptik Sari Edamame.** Jurnal Pangan dan Agroindustri 3 (3): 1015-1025.

Badan Standardisasi Nasional. 2005. **Cara Uji Kadar Padatan Terlarut Total secara Gravimetri (SNI 06-6989.27-**

**2005).** Badan Standardisasi Nasional (BSN). Jakarta.

Cheung, L. dan Wanasundara, J dan Nickerson, M. 2014. ***The Effect of pH and NaCl Level on The Physicochemical and Emulsifying Properties of A Cruciferin Protein Isolate.*** *Journal of Food Biophysics* 9: 105-113.

Govindarajan, B dan Prabakaran, V. 2014. ***Gut Micro-Floral of Earthworms: A Review.*** *American Journal of Biological and Pharmaceutical Research* 1 (3): 125-130.

Handayani, W., Anak, R., dan Agung, S. 2007. **Pengaruh Variasi Konsentrasi Sodium Klorida Terhadap Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru* Bleeker, 1853) Oleh Protoase Ekstrak Nanas (*Ananas comusus* [L.] Merr. Var. *Dulcis*).** Jurnal Teknologi Proses. 6 (1): 1-9.

Haslaniza, H., Maskat, M., Aida, W. M., dan Mamot, S. 2010. **The Effects of Enzyme Concentration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipitate from Cockle**

- (**Anadara Granosa**) Meat Wash Water. *International Food Research Journal* 17 (1): 147-152.
- Hatta, W., Hermanianto, J., dan Maheswari. 2006. **Karakteristik Daging dengan Penambahan Nacl pada Berbagai Waktu Aging Post Mortem**. *Jurnal ilmiah ilmu-ilmu peternakan* 9 (4): 258-260.
- Istiqomah, L., Ema D., Hardi J., Dewi I., dan Sri W. 2014. **Daya Hambat Granul Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap Bakteri Patogenik In Vitro**. *Jurnal Sain Veteriner* 32 (1): 93-104.
- Kramer, R. M., Varad, R. S., Nicole, M., C, Nick, P., dan J, Martin, S. 2012. **Toward a Molecular Understanding of Protein Solubility: Increased Negative Surface Charge Correlates with Increased Solubility**. *Journal of Biophysical* 102 (8): 1907-1915.
- Maqueda, D., Ledesma, H., dan Amigo, L. 2013. **Extraction/Fractionation Techniques for Proteins and Peptides and Protein Digestion**. Springer Science, Business Media. New York.
- Morais, H., Silvestre, J., Silveira, J., Silva, A., Silva, V., dan Silva, M. 2013. **Action of A Pancreatin and An Aspergillus Oryzae protease on Whey Proteins: Correlation Among The Methods of Analysis of The Enzymatic Hydrolysates**. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 56 (6): 985-995.
- Nasir, S., Fitriyanti, dan Hilma K. 2009. **Ekstraksi Dedak Padi Menjadi Minyak Mentak Dedak Padi (Crude Rice Bran Oil) dengan Pelarut N-Hexane dan Ethanol**. *Jurnal Teknik Kimia* 2 (6): 1-10.
- Ninni, L. dan Meirelles, A. J. A. 2001. **Water Activity, pH and Density of Aqueous Amino Acids Solutions**. *Journal of Biotechnology Program* 17 (4): 703-711.
- Nisa, F. C., J. Kusnadi, dan R. Chrisnasari. 2008. **Viabilitas dan Deteksi Subletal Bakteri Probiotik pada Susu Kedelai Fermentasi Instan Metode Pengeringan Beku (Kajian Jenis Isolate dan Konsentrasi Sukrosa sebagai Krioprotektan)**. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 9 (1): 40-51.
- Olivianti, R., dan Zubaidah, E. 2012. **Pengaruh Penambahan Garam Dan Lama Penggaraman Terhadap Aktivitas Antioksidan Minuman Sari Pare (*Momordica charantia* L)**. Skripsi. Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Palungkun, R. 2010. **Usaha Ternak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus***. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Putra, P., Sutarna, I., dan Mudita, I. 2015. **Kandungan Nutrien dan Populasi Mikroba inokulan yang diproduksi dari level cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) berbeda**. *E-Jurnal Peternakan tropika* 3(1): 430-442.
- Sari, D., Sudjarwo, E., dan Prayogi, H. 2014. **Pengaruh Penambahan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Segardalam Pakan Terhadap Berat Telur, Haugh Unit (Hu), Dan Ketebalan Cangkang Itik Mojosari**. *Jurnal Ternak Tropika* 15 (2): 23-30.
- Seo, J., Jung-eun K., Jung-Hyun S., Goo Y., Mi-Ae B., Chun-Sik B., Kyung-Jin L., Dae-Hun P., dan Seung-Sik C. 2016. **HPLC Analysis, Optimization of Extraction Conditions and Biological Evaluation of**

- Corylopsis coreana Uyeki Flos. Molecules Article 21 (94): 1-13.*
- Shao, L., Tianfeng W., Tianshui L., Fan L., and Pinjing H. 2013. ***Comparison of Sludge Digestion Under Aerobic and Anaerobic Conditions with A Focus On The Degradation of Proteins At Mesophilic Temperature.*** *Journal Bioresource Technology* 140: 131-137.
- Sharma, S., Pradhan, K., Satya, S., dan Vasudevan, P. 2005. ***Potentiality of Eartworms for Waste Management and In Other Uses.****Journal of American Science* 1 (1): 4-16.
- Shweta, M. 2012. ***Cellulolysis: A Transient Property of Earthworm or Symbiotic / Ingested Microorganisms.*** *International Journal of Scientific and Research Publication* 2 (11): 1-8.
- Sintasari, R., Joni, K., dan Dian, N. 2014. ***Pengaruh Penambahan Konsentrasi Susu Skim Dan Sukrosa terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Beras Merah.*** *Jurnal pangan dan Agroindustri* 2(3): 65-75.
- Soeka, Y. S., Joko, S., dan Elidar, N. 2008. ***Analisis Biokimia Minyak Kelapa Hasil Ekstraksi secara Fermentasi.*** *Jurnal Biodiversitas* 9(2): 91-95.
- Suliman, M., Tinay, A., Elmoneim, A., Babiker, E., dan Elkhalil, E. 2006. ***Solubility as Influenced by pH And NaCl Concentration and Functional Properties of Letin Protein Isolate.****Pakistan Journal of Nutrition* 5(6): 589-593.
- Yasothai, R dan Giriprasad, R. 2015. ***Surimi Washing Process and Salting In and Salting Out Method of Protein Extraction.*** *International Journal of Science, Environment, and Technology* 4(1): 161-163.