

SKRIPSI

PERBANDINGAN LAMA WAKTU KESEMBUHAN LUKA INFEKSI *Staphylococcus aureus* DENGAN PEMBERIAN MADU, OKSITETRASIKLIN DAN SULFANILAMIDE SECARA TOPIKAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)



Disusun Oleh :

ISWAN HARYANTO

NIM. 069412121

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

SKRIPSI

PERBANDINGAN LAMA WAKTU KESEMBUHAN LUKA INFEKSI *Staphylococcus aureus* DENGAN PEMBERIAN MADU, OKSITETRASIKLIN DAN SULFANILAMIDE SECARA TOPIKAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Hewan



Disusun Oleh :

ISWAN HARYANTO

NIM. 069412121

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

**PERBANDINGAN LAMA WAKTU KESEMBUHAN LUKA INFEKSI
Staphylococcus aureus DENGAN PEMBERIAN MADU,
OKSITETRASIKLIN DAN SULFANILAMIDE SECARA TOPIKAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

ISWAN HARYANTO

069412121

Menyetujui

komisi pembimbing



(Anita Asali, M.S., Drh.)
Pembimbing Pertama



(Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr.)
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**

Menyetujui,
Panitia Penguji,

Suryanie Sarudji, M.Kes., drh
Ketua

Sri Chusniati, M.Kes., drh
Sekretaris

Djoko Galiono, M.S., drh
Anggota

Anita Asali, M.S., drh.
Anggota

Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr.
Anggota

Surabaya, Agustus 1999
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga

Dr. Ismudiono, M.S., drh
NIP. 130.687.297

Persembahan :

*Untuk Ayahanda dan Ibunda Tercinta
Slamet Piyó Hartono dan Sugiarti
&
Semua Kakak Tersayang
Mas Heru, Heri, Hendri dan Mbak Yayuk
Serta
Nenek yang Terhasih
Semoga Selalu dalam Lindungan-Nya*

PERBANDINGAN LAMA WAKTU KESEMBUHAN LUKA INFEKSI
Staphylococcus aureus DENGAN PEMBERIAN MADU,
OKSITETRASIKLIN DAN SULFANILAMIDE SECARA TOPIKAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

ISWAN HARYANTO

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian madu dibandingkan dengan Oksitetrasiklin (Oxiject®) dan sulfanilamide secara topikal terhadap lama waktu kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini menggunakan 68 ekor tikus putih betina dengan umur \pm 3 bulan, kemudian dibagi menjadi dua yaitu 36 ekor untuk penentuan dosis pengenceran terendah dari kuman yang menginfeksi 100% tikus dan 32 ekor terdiri dari empat perlakuan dengan delapan ulangan. Infeksi buatan dilakukan dengan menginsisi sepanjang \pm 1 cm dengan kedalaman hingga mencapai *m. Longissimus dorsi*, kemudian menginokulasikan kuman *Staphylococcus aureus* sesuai dengan dosis pengenceran yang telah dilakukan sebelumnya, sebanyak satu tetes pipet Pasteur (0,05 cc). Setelah timbul gejala klinik berupa kebengkakan disertai nanah yang berwarna kekuningan pada luka kemudian dilakukan perlakuan. Perlakuan A luka dibiarkan tanpa diobati, perlakuan B luka diobati dengan madu, perlakuan C luka diobati dengan Oksitetrasiklin, perlakuan D luka diobati dengan Sulfanilamide. Pengobatan dilakukan tiga kali sehari (dengan interval \pm 8 jam) sampai sembuh. Pengamatan dilakukan saat melakukan pengobatan. Desain yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang terbagi menjadi empat perlakuan dan delapan ulangan. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan sidik ragam kemudian jika terdapat pengaruh dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Hasil percobaan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata diantara keempat kelompok perlakuan ($P < 0,01$) dengan lama waktu kesembuhan luka infeksi pada perlakuan A adalah $12,87 \pm 1,4577$ hari, perlakuan B $3,62 \pm 0,5174$ hari, perlakuan C $7,12 \pm 0,7439$ hari dan perlakuan D $8,50 \pm 1,069$. Penelitian ini menyimpulkan bahwa perlakuan B menunjukkan waktu kesembuhan yang paling cepat diantara ketiga perlakuan lainnya.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT. Atas segala rahmat yang telah diberikanNya, sehingga penyusun dapat menyelesaikan penelitian yang dilanjutkan dengan penyusunan makalah skripsi ini dengan baik. Penyusunan makalah ini didasarkan pada penelitian tentang perbandingan lama waktu kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* dengan pemberian madu, oksitetrasiklin dan sulfanilamide secara topikal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penyusun menyadari bahwa penelitian hingga penyusunan makalah skripsi ini tidak akan berhasil dengan baik tanpa adanya bantuan dan dukungan dari semua pihak. Penyusun pada kesempatan yang baik ini mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada Ibu Anita Asali, M.S.,Drh., sebagai pembimbing pertama dan Bapak Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr., sebagai pembimbing kedua yang telah dan selalu memberikan bimbingan, saran, dan nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan makalah ini.

Tidak lupa penyusun menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Didik Handijatno, M.S., Drh., sebagai kepala laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan fasilitas dan izin

hingga penelitian ini selesai dan ibu Erni Rosilawati SI, M.S. Drh., yang telah memberikan bimbingan sebelum selama dan setelah penelitian.

Kepada Ganjar P, Wulan CP, Widyaningsih, Hardian P, dan Andry K, penyusun menyampaikan terimakasih yang tulus atas terciptanya kerjasama yang baik sebelum, selama dan setelah penelitian dilakukan.

Kepada Eyang putri, Papa, Mama dan semua Mas dan Mbak yang penyusun sayangi dan cintai, terimakasih yang tak terkira atas semua doa restu, semangat, dorongan maupun bimbingan selama penyusun menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan makalah skripsi ini, penyusun mengucapkan terimakasih yang tulus.

Semoga makalah ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca maupun siapapun yang memerlukan.

Surabaya, Agustus 1999

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Perumusan Masalah	2
I.3. Tujuan Penelitian	3
I.4. Manfaat Penelitian	3
I.5. Landasan Teori	3
I.6. Hipotesis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Tinjauan tentang Madu	5
II.1.1. Pengenalan tentang Madu	5
II.1.2. Lebah sebagai Penghasil Madu	5
II.1.3. Kandungan Pada Madu	6
II.1.4. Sifat Anti Bakteri Pada Madu	7
II.2. Tinjauan tentang luka	9
II.2.1. Luka Infeksi	9
II.2.2. Kesembuhan Luka	10

II.2.3. Kesembuhan Luka Infeksi	11
II.3. Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	12
II.3.1. Morphologi	12
II.3.2. Pemiakan	12
II.3.3. Daya Tahan	13
II.3.4. Sifat Biokimia	14
II.3.5. Toksin yang Dihasilkan	16
II.3.6. Patogenesis	17
II.4. Tinjauan tentang Oksitetrasiklin	18
II.4.1. Asal dan Kimia	18
II.4.2. Sifat Antibakterial	20
II.5. Tinjauan tentang Sulfanilamide	20
II.5.1. Sifat Antibakterial	22
BAB III. MATERI DAN METODE	23
III.1. Tempat dan Waktu Penelitian	23
III.2. Bahan dan Alat Penelitian	23
III.3. Metode Penelitian	24
III.3.1. Adaptasi Hewan Coba	24
III.3.2. Pembuatan Suspensi Kuman	25
III.3.3. Penentuan Dosis Infeksi	25
III.3.4. Pembuatan Luka Infeksi	26
III.3.5. Perlakuan Pengobatan	27

III.4. Peubah Yang Diamati	28
III.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	28
BAB IV. HASIL PENELITIAN	30
BAB V. PEMBAHASAN	33
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	38
RINGKASAN	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2. Hasil Pengamatan Waktu Penyembuhan Luka Infeksi <i>Staphylococcus aureus</i>	30
3. Hasil Rata-Rata dan Simpangan Baku Lama Waktu Penyembuhan Luka Terinfeksi <i>Staphylococcus aureus</i>	31





BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah

Kondisi peternakan di Indonesia kebanyakan belum diusahakan secara profesional sebab memelihara ternak hanya sebagai pekerjaan sampingan disamping pertanian. Sebenarnya kondisi alam Indonesia sesuai bagi usaha di bidang peternakan, karena selain didukung oleh melimpahnya hijauan juga oleh faktor yang lain, seperti iklim di Indonesia yang tropis. Kondisi ini pula yang menyebabkan banyak penyakit infeksius berkembang dengan cepat. Morbiditas penyakit infeksius di Indonesia cukup tinggi. Salah satu contoh adalah infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri. Bakteri yang paling sering menginfeksi kulit adalah *Staphylococcus aureus*. Kuman tersebut merupakan kuman yang bersifat invasif. *Staphylococcus aureus* akan menyerang induk semang bila terdapat faktor predisposisi seperti trauma, adanya luka pada kulit atau mukosa maupun infeksi sekunder pada penyakit lain (Allen, 1991; Merchant and Packer, 1971).

Antibiotika adalah obat yang tepat untuk mengobati infeksi bakteri ini. Di masa sekarang ini berbagai macam obat paten telah beredar di pasaran bebas, akan tetapi karena mahal dan sulit didapat apalagi di daerah pedesaan, maka banyak orang yang menggunakan obat tradisional sebagai

alternatif yang diambil untuk mengatasi masalah ini karena obat tradisional pada umumnya murah, mudah didapat dan mudah dalam penyimpanan.

Salah satu pengobatan secara tradisional adalah menggunakan madu. Selain itu dapat digunakan produk-produk lebah madu yang lain seperti propolis lebah, tepung sari lebah dan *royal jelly*. Usaha pengobatan dengan produk lebah madu disebut Apitheraphy (Mashudi dkk, 1998).

Di dalam penelitian secara *in vitro*, madu mempunyai daya bunuh yang cukup tinggi terhadap *Staphylococcus aureus*, yaitu dalam konsentrasi 50 % (Dharmayanti, 1996). Berdasarkan hal tersebut di atas maka perlu diteliti lebih lanjut efektivitasnya secara *in vivo* sebagai pengobatan alternatif terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* sekaligus mengoptimalkan penggunaan madu di bidang kesehatan.

1.2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut maka timbul suatu permasalahan yang dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ada pengaruh penggunaan madu secara topikal terhadap lama waktu kesembuhan luka pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi kuman *Staphylococcus aureus*?
2. Apakah ada perbedaan lama waktu kesembuhan antara pemberian terapi madu dibandingkan dengan oksitetrasiklin maupun sulfanilamide secara topikal terhadap luka yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh madu secara topikal terhadap lama waktu kesembuhan luka yang diinfeksi kuman *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui ada tidaknya perbedaan lama waktu kesembuhan luka yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* yang diberikan terapi madu, oksitetrasiklin dan sulfanilamide secara topikal.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang kemungkinan madu sebagai obat luka infeksi *Staphylococcus aureus*.

1.5. Landasan Teori

Madu telah diketahui memiliki kandungan *lysozyme*, suatu enzim yang memiliki sifat anti bakteri yang menimbulkan efek lisis pada bakteri. Selain itu madu mempunyai kadar gula yang tinggi, yang akan menyebabkan sifat osmosis, yang akan mematikan bakteri karena cairan bakteri terserap keluar (Kustantiny dkk, 1992).

Penelitian *in vitro* oleh Dharmayanti, (1996) menunjukkan daya anti bakteri madu terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 50% mampu menghambat dan membunuh kuman tersebut. Penelitian tersebut menggunakan metode daya hambat minimal dan daya bunuh minimal.

I.6. Hipotesis

Dari permasalahan-permasalahan tersebut, hipotesa yang dapat diambil adalah:

1. Terdapat pengaruh pemberian madu secara topikal pada lama waktu kesembuhan luka yang diinfeksi kuman *Staphylococcus aureus*.
2. Tidak terdapat perbedaan terapi menggunakan madu, oksitetrasiklin dan sulfanilamide secara topikal terhadap lama waktu kesembuhan luka yang diinfeksi *Staphylococcus aureus*.





BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan Tentang Madu

II.1.1. Pengenalan Tentang Madu

Di daerah tropis madu dapat dihasilkan terutama dari nektar bunga dan manna, juga dari *nektar ekstraloral*, air gula tebu, nira dari sadapan enau, kelapa, dan lontar. Nektar adalah cairan yang mengandung gula sekresi dari kelenjar tumbuhan. Nambur madu (*honey dew*) diekskresikan oleh tumbuhan dalam bentuk tetesan-tetesan kecil diatas permukaan daun dan dahan tanaman yang jika keadaan cuaca memungkinkan akan menguapkan air dengan cepat membentuk manna, yang rasanya sangat manis (Sihombing, 1997).

Madu adalah cairan kental manis yang dihasilkan lebah madu berasal dari berbagai sumber nektar serta mempunyai aktivitas enzim diastase. Nektar diubah oleh diastase yang disebut *invertin* pada lebah, disimpan dalam kantong madu dan diproses menjadi madu (Kustantiny dkk, 1990).

Madu yang berasal dari bermacam-macam bunga akan berbeda dalam penampilan dan kualitas. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas madu antara lain, warna, rasa, kekentalan dan aroma (Sihombing, 1997).

II.1.2. Lebah Sebagai Penghasil Madu

Lebah termasuk serangga. Taksonomi lebah adalah sebagai berikut:

Kelas	:	Insekta
Ordo	:	Hymenoptera
Famili	:	Apidae
Sub famili	:	Apini
Genus	:	Apis
Spesies	:	<i>Apis cerana</i> , Fabricius
Sub species	:	<i>Apis cerana cerana</i> / <i>A.c. sinensis</i> <i>A.c. indica</i> / <i>A.c. japonica</i> <i>A.c. javana</i>

Spesies *Apis cerana* adalah spesies yang asli dari Asia Tenggara. Selain spesies tersebut di Indonesia terdapat pula *Apis florea* serta *Apis adeniformis*, namun hingga sekarang hanya *Apis cerana* yang sudah mulai dibudidayakan. Spesies yang dibudidayakan di Indonesia saat ini adalah *Apis indica* dan *Apis mellifera* (Warisno, 1996; Sihombing, 1997).

II.1.3. Kandungan Pada Madu

Hasil analisis laboratorium pada madu, diketahui bahwa madu mengandung air 15%, abu 1%, sukrosa 8%, fruktosa 41%, glukosa 35%. Madu juga mengandung vitamin A, vitamin B1, vitamin B2 dan enzim pencernaan. Beberapa jenis enzim yang terdapat pada madu adalah enzim

diastase, invertase, katalase, dan peroksidase. Diastase berfungsi merubah pati dan dextrin menjadi gula yang lebih sederhana. Invertase berfungsi untuk mengubah gula tadi menjadi glukosa dan fruktosa. Enzim katalase berfungsi untuk memecah peroksida. Derajat keasaman pada madu berkisar 3,8-4,3 (Warisno, 1996).

Madu mengandung zat-zat organik yang bersifat asam seperti asam malat, asam tartrat, asam sitrat, asam laktat, serta asam oksalat. Selain bahan organik, madu memiliki kandungan mineral seperti kalsium, natrium, kalium, besi, klor, fosfor, belerang, garam yodium, dan radium. Magnesium pada madu memiliki persamaan pada serum darah manusia (Warisno, 1996).

Protein pada madu berkadar sangat rendah yaitu antara 0,4 - 0,8 %, yang didapatkan dari sisa-sisa larva dan tepung sari. Asam amino akan bereaksi dengan gula membentuk senyawa yang berwarna kuning dan coklat (Kustantiny dkk, 1992).

Madu dengan warna yang gelap disebabkan banyak mengandung mineral terutama zat besi (Fe), Cu dan Mn. Madu dengan warna yang lebih gelap sebagai bahan makanan akan lebih baik daripada madu dengan warna yang lebih putih (Warisno, 1996).

II.1.4. Sifat Anti Bakteri Pada Madu

Sifat anti bakteri madu disebabkan adanya kadar gula yang tinggi (hipertonik), sehingga menyebabkan bakteri tidak dapat hidup karena

cairan bakteri terserap keluar, karena perbedaan tekanan osmosis yang besar (Kustantiny dkk., 1990).

Sifat anti bakteri yang lain adalah, madu memiliki enzim yang disebut *Lysozyme* yang menimbulkan efek lisis pada sebagian besar bakteri (Frazier *et al.*, 1988). *Lysozyme* memiliki aktivitas antibakterial khususnya terhadap kuman Gram positif yang dapat menyebabkan lisis karena *lysozyme* kemungkinan berperan sebagai opsonin yang akan merangsang monosit untuk memfagosit sel bakteri.

Lysozyme tersebut dikenal sebagai *inhibine*. Daya *inhibine* dalam madu secara kuantitatif dinyatakan dalam satuan bilangan *inhibine*. Biasanya bilangan inhibin berkisar antara nol sampai lima. Pengujian bilangan inhibin ini menggunakan kuman *Staphylococcus aureus*. Bilangan inhibin lima berarti madu dengan konsentrasi 4% dalam agar padat telah mampu membunuh atau mencegah pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada pupukan agar tersebut. Bilangan inhibin satu artinya madu dalam konsentrasi yang lebih pekat baru dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan kuman tersebut. Kadar *inhibine* dalam madu tergantung pada jenis, umur, dan kondisi dari madu. Semakin tinggi bilangan *inhibine*, semakin kuat daya anti bakteri madu tersebut. *Inhibine* sangat sensitif terhadap panas, pada suhu 60 °C keaktifan *inhibine* hilang dalam 15 menit (Winarno, 1981). Daya bunuh madu terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah dengan konsentrasi 50% (Dharmayanti, 1996).

II.2. Tinjauan Tentang Luka

Luka adalah suatu keadaan hilangnya kontinuitas dari suatu jaringan. Kejadian luka dapat disebabkan secara fisik yang akhirnya merusak kontinuitas normal dari suatu struktur jaringan (Slatter, 1985).

Luka secara umum dapat dibagi menjadi dua yaitu luka tertutup dan luka terbuka (Thomson, 1984). Luka tertutup yaitu luka yang terjadi karena luka tersebut tidak diikuti kerusakan pada jaringan kulit setempat. Menurut Slatter (1985), luka terbuka adalah perlukaan yang diikuti dengan kerusakan pada jaringan kulit. Salah satu macam luka terbuka adalah luka insisi (luka akibat benda tajam).

II.2.1. Luka Infeksi

Pertumbuhan mikroorganisme yang terdapat pada luka dapat dikatakan bahwa luka tersebut mengalami infeksi. Terjadinya infeksi pada luka tergantung pada patogenitas dan virulensi dari kuman tersebut, ukuran inokulum (jumlah), adanya benda asing dalam luka, suplai darah, kesehatan secara umum dari hewan dan perlakuan yang buruk saat menangani luka untuk pertama kali (Slatter, 1985). Menurut Jennings (1984), infeksi luka terjadi jika jumlah bakteri mencapai konsentrasi 10^5 - 10^6 per gram jaringan. Sedangkan menurut Swaim, (1980) pada jumlah tersebut tubuh tidak mempunyai kemampuan pertahanan tubuh yang cukup melawannya.

Gejala pada luka infeksi adalah peradangan yang mempunyai tanda berupa panas, kemerahan, bengkak, rasa sakit, gangguan fungsi. Selain tanda-tanda tersebut juga timbul reaksi pematangan dan terkumpulnya jaringan nekrotik pada luka. Hal ini karena tubuh mengadakan respon terhadap kejadian infeksi tersebut.

Tizzard (1988), mengemukakan bahwa respon pertahanan tubuh ada dua macam yaitu pertahanan spesifik dan non spesifik. Pertahanan spesifik melibatkan sel limfosit B (sel B) dan sel limfosit T (sel T). Kedua sel tersebut adalah suatu mekanisme dan kemampuan tubuh untuk mengenali benda asing. Sedangkan untuk pertahanan non spesifik adalah respon peradangan dan seluler (fagositik). Respon peradangan penting untuk mengatasi luka infeksi secara awal dengan memicu datangnya sel-sel radang. Sel radang PMN (netrofil) adalah yang pertama kali menghancurkan sel bakteri penginfeksi. Hancuran sel bakteri, jaringan nekrotik dan netrofil yang mati, membentuk nanah (Slatter, 1985).

II. 2.2. Kesembuhan Luka

Kesembuhan luka adalah perbaikan kontinuitas jaringan yang mengalami kerusakan. Hal ini dihambat oleh adanya infeksi dengan cara memisahkan tepi luka, menurunkan suplai darah dan respon seluler meningkat yang akhirnya memperpanjang fase kesembuhan luka (Peacock dan Winkle, 1976).

Tahap kesembuhan luka ada dua yaitu tahap peradangan (inflamasi) dan tahap perubahan (*remodelling*) (Harvey *et al.*, 1990). Tahap yang pertama adalah peradangan yang terjadi setelah luka dimana timbul tanda-tanda berupa rasa sakit, kemerahan, panas, pembengkakan dan gangguan fungsi (Price and Wilson, 1993). Tahap ini dilanjutkan dengan fase fibroblastik yaitu sel-sel tubuh secara aktif ikut serta dalam memproduksi matriks jaringan konektif yang terjadi setelah pus dan darah dikeluarkan dari luka (*debridement*). Fase berikutnya adalah fase kontraksi dimana ukuran dari luka terbuka tersebut mengalami pengerutan oleh karena gerakan sentripetal dari kulit (Harvey *et al.*, 1990).

Tahap kedua adalah tahap perubahan (*remodelling*) yang terbagi dalam dua fase yaitu kekuatan luka awal yang kadang disebut fase proliferasi dimana terbentuk gumpalan-gumpalan fibrin pada luka. Selain itu karena adanya epitelisasi dan pembentukan pembuluh darah yang baru. Fase berikutnya adalah kekuatan luka akhir yaitu terdapatnya stabilisasi dari luka karena terbentuknya kolagen pada luka tersebut (Slatter, 1985; Harvey *et al.*, 1990).

II.2.3. Kesembuhan Luka Infeksi

Luka yang mengalami infeksi dapat menimbulkan gangguan dalam mekanisme homeostatis normal, karena homeostasis merupakan respon fungsional dari tubuh untuk mengembalikan kondisi tubuh pada keadaan

normal. Jika homeostatis terganggu maka akan menyebabkan terjadinya perpanjangan waktu dalam kesembuhan luka terinfeksi jika dibandingkan dengan yang tidak terinfeksi (Slatter, 1985).

Antibiotik dapat digunakan dalam penyembuhan luka infeksi, karena antibiotik mempunyai kemampuan dalam mengembalikan mekanisme homeostatis dengan mengeliminir keberadaan mikroorganisme pada luka sehingga terjadi homeostasis secara normal (Harvey *et al.*, 1990). Antibiotika yang digunakan sebagai terapi haruslah untuk bakteri yang rentan sehingga diperlukan pemilihan obat untuk pengobatan yang sesuai (Jawetz *et al.*, 1986).

II.3. Tinjauan Tentang *Staphylococcus aureus*

II.3.1. Morphologi

Staphylococcus adalah kuman dengan bentuk bulat, dapat berpasangan, sendiri-sendiri, atau membentuk rantai pendek, bahkan seperti buah anggur. Diameter kuman ini 0,8 - 1 mikron. Kuman bersifat non motil, tidak membentuk spora, tidak berkapsul maupun flagella. Pada pewarnaan, kuman ini bersifat Gram positif (Merchant and Packer, 1971).

II.3.2. Pemiakan

Staphylococcus merupakan kuman Gram positif dengan besar koloni 0,5-1,5 mm yang jika dibiakkan dalam *Blood Agar* akan berwarna putih

porcelain sampai kekuningan dengan membentuk zona hemolisis yang kecil atau bahkan tidak membentuk zona hemolisis sama sekali (Jennings, 1984).

Temperatur optimum *Staphylococcus aureus* adalah 37°C dengan pH 7,1-7,6. Pertumbuhan pada plat agar membentuk koloni yang bulat, dengan permukaan halus, mengkilat, sedikit cembung, tepi koloni tidak teratur. Kekeruhan yang merata didapatkan jika kuman *Staphylococcus aureus* ditanam pada kaldu, disertai dengan sedikit endapan putih. Media yang mengandung kentang akan memberikan pertumbuhan yang baik bagi *Staphylococcus aureus* dengan membentuk pigmen keemasan dengan kelarutan yang tinggi terhadap alkohol, eter, kloroform maupun bensol (Cruickshand *et al.*, 1980).

Staphylococcus aureus merupakan kuman dengan sifat aerobik atau fakultatif anaerobik. *Staphylococcus aureus* dapat mencairkan gelatin, memfermentasikan gula menjadi asam dan pada media padat dapat tumbuh dengan baik. Media untuk isolasi *Staphylococcus aureus* digunakan Manitol Salt Agar (MSA) dan *Staphylococcus* no.110 (Soltys, 1963; Merchant dan Packer, 1971; Jawets *et al.*, 1986).

II.3.3. Daya Tahan

Pemanasan pada temperatur 60°C selama 30 menit akan merusak seluruh sel *Staphylococcus*. *Staphylococcus* tidak tahan terhadap sinar matahari langsung (Merchant dan Packer, 1971).

Menurut Merchant dan Packer, (1971) kuman *Staphylococcus* dapat dibunuh dengan larutan phenol 1% selama 35 menit, larutan phenol 2% selama 12 menit, larutan formalin 10% selama 10 menit dan larutan *Gentianviolet* pada pengenceran 1: 25000 selama 5 - 10 menit.

II.3.4. Sifat Biokimia

Staphylococcus aureus membentuk asam tanpa gas dari glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa, glicerol dan manitol. Tidak menguraikan salicin, raffinosa atau inulin. Mengkoagulasikan susu litmus sehingga bersifat asam dan peptonasi lambat. Indol positif, NH_3 positif, VP (Voges Proskauer) positif, MR (*Methyl Red*) positif, *Methylen Blue Reduction* positif, Nitrat tereduksi menjadi Nitrit, H_2S sedikit, mencairkan gelatin, koagulasi serum darah, katalase positif, hemolisis positif (Merchant dan Packer, 1971). Secara lebih jelas dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sifat *Staphylococcus aureus*

Karakter	<i>Staphylococcus aureus</i>
Gram	+
Motilitas	-
Membentuk gas dari glukosa	-
Spora	-
Kapsul	-
Flagel	-
Asam dari glukosa	+
Asam dari maltosa	+
Asam dari laktosa	+
Asam dari sukrosa	+
Asam dari gliserol	+
Asam dari manitol	+
Koagulasi susu litmus	+
Indol	+
NH ₃	+
VP	+
MR	+
Koagulase	+
Methilen blue reduction	+
Katalase	+
Hemolisis	+
NaCl 10%	+
Temperatur 30-37°C	+

II.3.5. Toksin yang Dihasilkan

Menurut Woolcock (1991), *Staphylococcus aureus* menghasilkan tiga macam toksin yaitu *exotoxin*, *enterotoxin* dan *exoenzyme*. *Exotoxin*, yaitu *Alpha toxin* dan *leucocidin* yang mempunyai aktivitas antifagositik. *Alpha toxin* dapat mematikan jika terdapat dalam jumlah yang cukup di tubuh, juga menginduksi kerusakan lisosom dalam netrofil. Selain itu berinteraksi dengan lipid terutama pada membran sel dan dapat berikatan (membentuk senyawa) yang akhirnya merusak struktur membran sel. Sedangkan *leucocidine* adalah substansi yang toksik terhadap leukosit, khususnya yang dihasilkan oleh beberapa bakteri patogen, dari genus *Staphylococcus* dan *Streptococcus* yang membunuh leukosit dengan melisis granula sitoplasmik dan merupakan sebagian dari patogenitas bakteri tersebut.

Enterotoxin, kerugian karena enterotoksin pada hewan biasanya sedikit, dan dihubungkan dengan *food poisoning* pada usus. Toksin ini mempengaruhi usus dengan mengubah transpor cairan, ion dan glukosa, menyebabkan kerusakan jaringan dan menghambat proses metabolisme pada jaringan usus dengan mekanisme yang belum diketahui. Enterotoksin tipe B diproduksi oleh bakteri ini dengan efek mempengaruhi sistem syaraf otonom yang menyebabkan peristaltik yang berlebihan juga pada sistem syaraf pusat yang menyebabkan *vomit* yang *profus*.

Exoenzyme yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* adalah hyaluronidase yang menyebabkan lisisnya sel otot. Selain itu juga diproduksi koagulase yang dapat menyebabkan plasma darah menggumpal.

II.3.6. Patogenesis

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan terjadinya septikemia, endocarditis, meningitis, abses cerebri, sepsis puerpuralis, trombosis sinus kavernosus, osteomyelitis, dan pneumonia (Merchant and Packer, 1971). Furunkel atau abses setempat merupakan suatu contoh lesi *Staphylococcus*. Kuman berkembang biak dalam folikel rambut dan menyebabkan terjadinya nekrosis pada jaringan setempat, kemudian terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Selanjutnya disusul dengan runtuhnya sel radang, di pusat lesi akan terjadi pencairan jaringan nekrotik, cairan abses akan mencari jalan keluar di tempat yang paling rendah tahananannya. Pembentukan cairan abses diikuti dengan pembentukan jaringan granulasi (Warsa, et al., 1993).

Peradangan setempat merupakan sifat khas dari infeksi *Staphylococcus*. Dari tempat radang ini kuman akan menyebar ke bagian tubuh yang lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga akan terjadi peradangan vena dan trombosis (Warsa, 1993). Sedangkan menurut Woolcock (1991) infeksi *Staphylococcus* menyebabkan

septic shock dan DIC (*Disseminative Intravascular Coagulation*) atau koagulasi intravaskuler yang menyebar.

Staphylococcus merupakan kuman yang sering menginfeksi luka post operasi dengan penanganan yang kurang baik (Hartmann *et al.*, 1997). Lesi kulit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berupa ulceratif dermatitis sering didapatkan kuman *Staphylococcus aureus* di dalamnya (Fox *et al.*, 1984).

II.4. Tinjauan Tentang Oksitetrasiklin

II.4.1. Asal dan Sifat Kimia

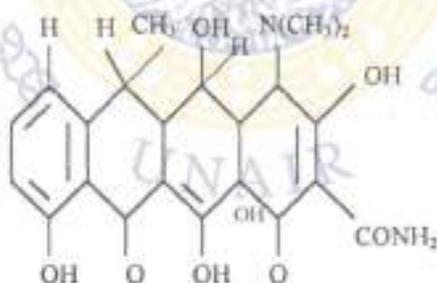
Antibiotika golongan tetrasiklin yang pertama kali ditemukan adalah tetrasiklin yang dihasilkan oleh jamur *Streptomyces aureofaciens*. Seiring dengan kemajuan jaman dan teknologi maka diperkenalkan untuk pertama kali oksitetrasiklin pada tahun 50-an yang diisolasi dari *Streptomyces rimosus*. Struktur dasar dan aktivitas obat golongan tetrasiklin ini hampir mirip satu sama lain (Katzung, 1989; Setiabudy, 1995).

Oksitetrasiklin merupakan basa yang sukar larut dalam air, tapi bentuk garam natrium atau garam HCl nya mudah larut. Dalam keadaan kering, bentuk basa dan garam HCl bersifat relatif stabil. Dalam larutan dengan pH kurang dari dua potensinya berkurang dan mudah rusak oleh alkali hidroksida dan jika terpapar sinar matahari atau pada suhu yang tinggi (90⁰C) dengan kelembaban udara yang tinggi maka warnanya akan berubah menjadi gelap.

Oksitetrasiklin HCl bentuk kering mempunyai sifat berupa kristal kuning dengan rasa pahit yang tidak berbau, larut dalam air dan pelarut organik, stabil dalam larutan dengan pH 2-5 pada temperatur 25°C (Setiabudi, 1980; Martindale, 1989; Jawetz, 1995).

Golongan tetrasiklin termasuk oksitetrasiklin, memiliki sifat dan struktur kimia yang hampir sama. Nama resmi dari Oksitetrasiklin HCl adalah *Oksitetrasiklin hidrokloridum* sedang nama kimianya 4-diametilamino-1,4,4a,,5,5a,6,11,12a-oktahidro-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi-6-metil-1,11-diksonaftasena-2-karboksamida hidroklorida. Rumus kimia Oksitetrasiklin HCl adalah $C_{22}H_{24}N_2O_9HCl$ (Alfonso dan Alfred, 1970; Setiabudi, 1995).

Antibiotika golongan tetrasiklin mempunyai struktur dasar yang terdiri dari cincin beratom C dengan ikatan rangkap. Struktur kimia oksitetrasiklin adalah sebagai berikut:



Sumber: Jones, *et al.*, (1977);Setiabudi, (1995).

II.4.2. Sifat Antibakterial

Oksitetrasiklin merupakan antibiotik dengan sifat bakteristatik pada konsentrasi rendah dan bakteriosid pada konsentrasi tinggi. Oksitetrasiklin termasuk antibiotika yang berspektrum luas (Goodman and Gilman, 1975; Setiabudi, 1980; Brander, *et al.*, 1982). Aktivitas oksitetrasiklin melawan sejumlah bakteri baik dari Gram positif maupun Gram negatif diantaranya dari genus *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Brucella*, *Corynebacterium*, *Erypelotrix*, Coliform dan *Salmonella*, juga *Rickettsiae*, *Amoebae*, *Pseudomonas*, *Proteus* dan *Klebsiella* (Brander, *et al.*, 1982; Craigh and Stitzel, 1991).

Cara kerja antibiotika golongan tetrasiklin ini adalah mengikat ribosom 30 S secara spesifik, ikatan ini sebagian bersifat *irreversible*. Golongan ini juga menghambat ikatan t-RNA pada posisi akseptor m-RNA sehingga tidak menambah asam amino pada proses terbentuknya protein dari kuman (Goodman and Gilman, 1975; Katzung, 1989; Craigh and Stitzel, 1991 Idris dkk, 1993).

II.5. Tinjauan Tentang Sulfanilamide

Sulfanilamide merupakan obat kemoterapi, yaitu obat anti mikroba yang dibuat secara sintesis. Merupakan senyawa kimia pertama yang digunakan secara sistematis untuk mencegah dan mengobati penyakit infeksi

bakteri pada manusia (Anonimus, SA). Nama kimia sulfanilamide adalah Amino benzene sulfonamide dengan rumus kimia $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$.

Sulfanilamide banyak diganti oleh derivat-derivatnya yang lebih efektif dan kurang toksik. Penggunaannya terbatas secara topikal pada luka, pengobatan *intrauterine* dan infus *intra mammary* untuk kejadian mastitis (Jones, 1965).

Serbuk sulfanilamide biasanya digunakan pada luka atau insisi sebagai kontrol keadaan terapeutik maupun profilaksis. Penggunaan serbuk sulfanilamide ini bersifat bebas (secukupnya tergantung kondisi luka), pada jumlah yang banyak akan memberikan pengaruh terhadap kesembuhan luka (Jones, 1965; Siegmund and Fraser., 1973). Sedangkan Sulfanilamide lebih efektif untuk luka baru karena adanya pus pada luka lama akan menghambat kerja obat ini.

Sulfanilamide merupakan senyawa dengan cincin atom C yang mengandung substitusi gugus amino (NH_2) dengan rumus dasar sebagai berikut.



(Sumber Mariana, 1995)

II.5.1. Sifat Antibakterial

Sulfanilamide bekerja sebagai anti metabolit yang mengusir secara kompetitif asam para amino benzoat (PABA) yang dibutuhkan bakteri untuk pembentukan asam folat, untuk pertumbuhan dan metabolisme kuman (Mutschler, 1991; Idris dkk, 1993; Mariana, 1995).

Berdasarkan sifat seperti diatas maka sulfanilamide dimasukkan sebagai antimikroba yang bersifat bakterioostat karena tidak mematikan bakteri (Mutschler, 1991).





BAB III

MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian *in vivo* mengenai perbandingan terhadap lama waktu kesembuhan luka yang diinfeksi kuman *Staphylococcus aureus* dengan penggunaan madu, oksitetrasiklin dan sulfanilamide secara topikal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan selama 4 bulan dari 1 Agustus hingga 30 Nopember 1998 di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

III.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang diperlukan antara lain, mikroskop, cawan petri, tabung reaksi besar, tabung reaksi kecil, gelas ukur, pipet (mikropipet maupun pipet pasteur), spatel, corong kaca, bunsen, neraca, inkubator, lemari es, rak tabung reaksi, ose, autoklav, akuades steril, kapas, gunting, skalpel, pinset. Pemeliharaan hewan coba menggunakan kandang tikus yang terbuat dari plastik 50 x 30 cm, tempat minum, dan kawat penutup kandang.

Media yang dipakai dalam penelitian ini adalah *Mueller Hinton Broth (MHB)* dan *Manitol Salt Agar (MSA)* serta *Mueller Hinton Agar (MHA)*. Pemberian sekam dilakukan sebagai litter. Rodalon® digunakan sebagai desinfektan.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berumur 3 bulan, berjenis kelamin betina yang didapatkan dari Unit Pengembangbiakan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada.

Tikus dipelihara dalam kandang dengan setiap kandang berisi 8 ekor. Sekam diganti setiap hari setelah kandang disemprot dengan Rodalon[®]. Pakan diberikan *ad libitum* dari Pokphand (Hi Pro Vite Medicated 593) dikemas oleh PT. Korina Surabaya.

Madu diperoleh dari peternakan lebah madu ekstensif di Kec. Doko Kab. Blitar. Oksitetrasiklin dengan nama dagang Oxiject[®] diproduksi oleh PT. Fermenta Animal Health dalam bentuk cairan injeksi, dikemas dalam vial 100 mililiter. Sulfanilamide diproduksi oleh PT. Saka Farma, Semarang dalam bentuk serbuk dan dikemas dalam sachet dengan isi 10 gram.

Kuman yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25922 diperoleh dari laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

III.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba yang telah dilukai dan diinfeksi dengan *Staphylococcus aureus* baru kemudian diberikan beberapa perlakuan yang berbeda.

III.3.1. Adaptasi Hewan Coba

Tikus diadaptasikan dengan dikandangkan dan diberi pakan dan minum selama satu minggu. Pakan berupa konsentrat dan minum air PDAM diberikan *ad libitum*. Setelah masa adaptasi selesai hewan coba mulai diberikan perlakuan.

III.3.2. Pembuatan Suspensi Kuman

Pembuatan suspensi kuman dilakukan dengan standar *Mc Farland, No 1* dengan cara diambil 4-5 koloni kuman *Staphylococcus aureus* dari media padat (*MHA/MSA*) dimasukkan ke dalam 4 - 5 ml media cair (*MHB*). Suspensi kuman itu kemudian diinkubasi pada suhu 37^o C selama 2-5 jam. Setelah itu kekeruhannya disesuaikan dengan standar *Mac Farland No. 1* dengan jumlah bakteri 3×10^8 sel per ml (Carter and Cole, 1990).

III.3.3. Penentuan Dosis Infeksi

Penentuan dosis infeksi dilakukan untuk mendapatkan pengenceran kuman terendah yang dapat menginfeksi 100% tikus. Hasil ini dipergunakan untuk infeksi buatan pada perlakuan *in vivo*. Cara yang dilakukan adalah melakukan pengenceran suspensi kuman secara seri dari 10^{-1} – 10^{-6} dengan cara : mempersiapkan 6 tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 9 ml NaCl Fisiologis. Pada tabung reaksi 1 dimasukkan satu ml suspensi kuman yang sesuai dengan standar *MC Farland No 1* kemudian diaduk rata.

Kemudian dari tabung reaksi I diambil satu ml larutan dimasukkan dalam tabung reaksi II setelah itu diaduk rata, lalu dari tabung reaksi II diambil satu ml larutan dimasukkan dalam tabung reaksi III demikian seterusnya hingga tabung reaksi VI diambil satu ml dan dibuang, sehingga didapatkan pengenceran kuman 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} .

Langkah berikutnya adalah menyiapkan 36 ekor tikus putih dengan pencukuran bulu pada daerah yang akan diinsisi. Setelah itu dilakukan insisi pada bagian punggung dengan panjang 1 cm hingga kedalaman mencapai *m Longissimus dorsi*. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Kemudian tikus diinfeksi tiap kelompok sesuai dengan pengenceran suspensi kuman (lihat lampiran 5) sebanyak satu tetes pipet pasteur.

Gejala klinis berupa timbulnya peradangan dan nanah yang berwarna kekuningan merupakan indikasi tikus putih menderita infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Untuk memastikan bahwa nanah tersebut disebabkan *Staphylococcus aureus* maka diambil sampel nanah dengan menggunakan *cotton swab* dan ditanamkan pada media *Nutrient Agar* serta dilakukan uji identifikasi dan uji biokimia.

III.3.4. Pembuatan Luka Infeksi

Sebelum penelitian dilakukan kandang dan sekam untuk hewan coba disucikan dengan menggunakan Rodalon[®]. Tindakan ini diulang setiap hari hingga penelitian selesai.

Pada tahap ini, 32 ekor hewan coba dilakukan pencukuran bulu disekitar daerah yang akan diinsisi untuk mempermudah pelaksanaan insisi dan perlakuan pengobatan. Insisi dilakukan pada bagian punggung (hingga mencapai *m Longissimus dorsi*) dengan menggunakan skalpel sepanjang satu sentimeter. Kemudian hewan coba diinfeksi dengan *Staphylococcus aureus* sesuai dengan hasil penentuan dosis infeksi (lihat lampiran 5).

III.3.5. Perlakuan Pengobatan

Pengobatan dilakukan setelah luka infeksi *Staphylococcus aureus* positif yaitu timbulnya gejala klinis berupa peradangan yang disertai timbulnya pus (nanah) dan jaringan nekrotik yang berwarna kuning (Jawetz *et al.*, 1991). Untuk memastikan infeksi tersebut disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* maka diambil sampel nanah untuk uji identifikasi dan uji biokimia.

Sebelum perlakuan pengobatan dilaksanakan, hewan coba dibagi secara acak menjadi 4 kelompok dengan masing-masing terdiri dari 8 ekor hewan coba sesuai dengan ulangan. Masing-masing kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut :

Kelompok I : Perlakuan tanpa pengobatan (akuades).

Kelompok II : Perlakuan pengobatan dengan madu.

Kelompok III : Perlakuan pengobatan dengan sulfanilamide.

Kelompok IV : Perlakuan pengobatan dengan oksitetrasiklin.

Teknik pengobatan yang dilakukan adalah pengobatan secara topikal. Sebelumnya luka dibersihkan dengan menggunakan aquades steril, baru kemudian diberikan bahan obat pada luka tersebut. Pengobatan dilakukan tiga kali sehari dengan interval 8 jam, yaitu pada pukul 06.00, 14.00 dan jam 22.00 BBWI. Pengobatan dilakukan hingga terjadi kesembuhan.

Aplikasi madu dan oksitetrasiklin pada luka adalah dengan menggunakan *cotton bud* yang dicelupkan ke dalam larutan obat, dan kemudian dioleskan pada luka. Satu *cotton bud* dipakai hanya untuk satu ekor hewan coba. Untuk sulfanilamide serbuk langsung ditaburkan pada luka. Sedangkan untuk kontrol dilakukan pembersihan luka dengan aquades steril kemudian dibiarkan tanpa perlakuan pengobatan.

Pengamatan kesembuhan luka infeksi dilakukan bersama dengan waktu pengobatan. Pengamatan dilakukan untuk menentukan lama waktu kesembuhan luka dan dilakukan selama 2 minggu.

III.4. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati adalah lama waktu kesembuhan luka infeksi dalam hari (waktu sejak dilakukan pengobatan pertama kali sampai timbul

kesembuhan), dengan gejala kesembuhan seperti tidak adanya peradangan dan nanah, luka menutup serta terkelupasnya keropeng.

III.5 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan yaitu perlakuan kontrol (tanpa diberi apa-apa), pengobatan dengan madu, oksitetrasiklin dan sulfanilamide dengan masing-masing perlakuan dilakukan delapan kali ulangan. Data yang didapat dikumpulkan kemudian dibuat tabel dan diuji dengan Sidik Ragam, dan jika terdapat pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Kusriningrum, 1989).





BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Pengamatan Lama Waktu Kesembuhan Luka Infeksi

Data yang didapat dari hasil penelitian tentang perbandingan lama waktu kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* dengan pemberian madu, oksitetrasiklin dan sulfanilamide secara topikal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan menggunakan delapan kali ulangan disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Waktu Penyembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* yang diterapi Madu, Oksitetrasiklin (Oxiject®) dan Sulfanilamide topikal pada Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (dalam hari).

Ulangan	A	B	C	D
I	13	3	7	9
II	11	4	7	8
III	14	3	6	11
IV	13	3	7	8
V	13	4	7	8
VI	12	4	8	8
VII	14	4	7	8
VIII	13	4	8	8
Rata-rata	12,875	3,625	7,125	8,500

Keterangan :

A: Kontrol

B: Pengobatan dengan Madu

C: Pengobatan dengan Oksitetrasiklin (Oxiject®)

D: Pengobatan dengan Sulfanilamide

Hasil pada tabel 2 menunjukkan bahwa lama waktu yang diperlukan untuk kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* untuk perlakuan B setelah dilakukan pengulangan delapan kali adalah antara tiga sampai empat hari dengan rata-rata 3,625 hari, sedang untuk perlakuan C berkisar antara enam sampai delapan hari dengan rata-rata 7,125 hari untuk perlakuan D antara delapan sampai 11 hari dengan rata-rata 8,500 hari dan untuk perlakuan A sebagai kontrol diperoleh hasil antara 11-14 hari dengan rata-rata 12,875 hari.

Data tersebut setelah dianalisis dengan sidik ragam (lampiran) diperoleh hasil F hitung = 18,4214, sehingga F hitung lebih besar F tabel $p < 0,01$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1%.

Tabel 3. Hasil Rata-rata dan Simpangan baku Lama Waktu Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* yang diterapi madu, Oksitetrasiklin (Oxijet[®]) dan Sulfanilamide pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (dalam hari)

Perlakuan	Waktu Kesembuhan ($\bar{x} \pm SD$)
A ^a	12,875 \pm 1,4577
B ^d	3,625 \pm 0,5174
C ^c	7,125 \pm 0,7439
D ^b	8,500 \pm 1,0690

Keterangan : A,B,C,D = Jenis Perlakuan

Superskrip menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan.

Berdasar pada perhitungan BNT (Beda Nyata Terkecil) 1% didapatkan hasil bahwa dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara perlakuan satu dengan perlakuan lainnya. Hasil tersebut juga menyatakan bahwa waktu penyembuhan yang paling lama didapat pada perlakuan A dan yang paling cepat pada perlakuan B.





BAB V

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan sidik ragam diperoleh hasil bahwa antara keempat kelompok yaitu perlakuan A (kontrol/tanpa pengobatan) perlakuan B (pengobatan dengan Madu), perlakuan C (pengobatan dengan Oksitetrasiklin) dan perlakuan D (pengobatan dengan Sulfanilamide) terdapat pengaruh yang sangat nyata, ($p < 0,01$) terhadap lama waktu kesembuhan luka infeksi. Setelah dilanjutkan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1% diketahui bahwa perlakuan A memerlukan waktu penyembuhan yang paling lama dengan rata-rata $12,875 \pm 1,4757$ hari, dan perlakuan B memerlukan waktu yang paling cepat dengan rata-rata $3,625 \pm 0,5174$ hari. Sedangkan perlakuan C dan perlakuan D menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan rata-rata masing-masing $7,125 \pm 0,7439$ hari dan $8,500 \pm 1,069$ hari.

Pengaruh yang sangat nyata yang diperoleh dari perhitungan statistik masing-masing perlakuan pengobatan dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kejadian tersebut disebabkan karena adanya sifat antibakteri yang terdapat pada masing-masing obat yang digunakan pada penelitian ini, sedangkan pada perlakuan tanpa pengobatan tidak diberikan zat yang bersifat antibakteri.

Oksitetrasiklin digunakan sebagai antibakteri dengan cara mengikat ribosom 30S secara spesifik, ikatan ini sebagian kecil bersifat irreversibel. Selain itu juga menghambat ikatan tRNA pada posisi akseptor mRNA sehingga tidak bisa menambah asam amino pada proses pembentukan protein (Goodman & Gilman, 1975; Katzung 1989; Craig & Stitzel, 1991; Idris dkk, 1993). Oksitetrasiklin bersifat bakteriostatik yaitu bersifat menghambat pertumbuhan kuman, pada konsentrasi yang rendah sedang pada konsentrasi yang tinggi membunuh kuman atau dengan kata lain bakteriosid. (Setiabudi, 1995).

Sulfanilamide merupakan suatu antimikroba dengan sifat yang bakteriostat dengan cara kerja menghambat pertumbuhan kuman dengan melakukan antagonisme yang kompetitif dengan PABA (*Para Amino Benzoic Acid*) untuk disintesis menjadi asam folat yang diperlukan oleh bakteri untuk tumbuh dan berkembang (Siegmond & Fraser, 1973). Penggunaan sulfanilamide hanya sebatas pada penggunaan secara topikal pada luka, *intra uterine*, dan *infus intra mammae* pada kejadian mastitis (Jones, 1965).

Madu diketahui memiliki kadar gula yang tinggi yang menyebabkan timbulnya perbedaan tekanan osmosis yang besar, sehingga cairan dari sel bakteri terserap keluar dan bakteri akan mati (Kustantiny dkk, 1990). Selain itu madu memiliki senyawa/enzim *lisozyme* yang dapat membunuh kuman dengan cara merusak dinding sel. Kerusakan pada dinding sel ini akan menyebabkan lisisnya sel bakteri tersebut (Frazier *et al.*, 1988). Setelah

diketahui pengaruh dari masing-masing perlakuan terhadap perlakuan kontrol maka dilanjutkan dengan mencari apakah ada perbedaan dari masing-masing perlakuan tersebut. Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata terhadap lama waktu yang diperlukan untuk kesembuhan dari masing-masing perlakuan. Pengobatan sulfanilamide memiliki waktu kesembuhan yang lebih lama daripada pengobatan dengan madu dan oksitetrasiklin, karena bentuk sediaan sulfanilamide yang berupa serbuk. Obat berbentuk serbuk relatif lebih lama dalam hal penyerapannya ke dalam tubuh daripada sediaan berbentuk cair. Sediaan sulfanilamide yang berbentuk serbuk dalam jumlah banyak juga bisa mempengaruhi proses kesembuhan luka (Jones, 1965). Hal ini disebabkan terdapatnya butiran-butiran obat dianggap sebagai benda asing oleh tubuh yang menghalangi kedua tepi luka untuk bertaut kembali. Sebab lain adalah efek antibakteri sulfanilamide dihambat oleh adanya nanah dan jaringan nekrotik sehingga akan memperlama proses kesembuhan luka tersebut (Mariana, 1995).

Pengobatan dengan oksitetrasiklin, karena berbahan dasar cair sehingga tidak terbentuk benda asing yang akan mengganggu proses kesembuhan. Kejadian tersebut yang secara sangat nyata memberikan efek kesembuhan yang lebih cepat daripada dengan menggunakan sulfanilamide. Namun kedua obat tersebut hanya bersifat mengganggu pertumbuhan dan merusak kuman saja. Kejadian tersebut hanya akan membuat proses

homeostasis berjalan normal, sehingga tubuh berkesempatan untuk memperbaiki jaringan yang rusak itu secara normal (Harvey *et al.*, 1990).

Pengobatan dengan menggunakan madu jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain menempati posisi yang pertama dalam memberikan kesembuhan yang secara sangat nyata berbeda. Hal ini selain disebabkan adanya efek antibakteri dari madu seperti yang telah disebutkan diatas, juga karena madu memiliki kandungan gizi yang tinggi (vitamin, mineral, gula, asam amino dan lain-lain). Namun pada kondisi seperti ini bakteri tetap tidak bisa hidup karena adanya sifat antibakteri pada madu. Bahkan adanya kandungan gizi yang tinggi ini akan membuat perbaikan jaringan yang rusak dapat dilakukan dengan cepat sehingga terjadi kesembuhan yang cepat pula. Selain itu sebagian kandungan gula yang terdapat pada madu adalah glukosa yang dapat diserap dalam jaringan otot melalui membran sel dengan bantuan insulin, sehingga cepat menghasilkan energi (Handoko dan Suharto, 1995). Energi yang terbentuk ini akan membantu sel-sel di dalam jaringan yang rusak untuk bisa mempercepat proses kesembuhan. Hal ini yang tidak dimiliki oleh obat pada perlakuan yang lain. Sehingga pengobatan dengan madu bisa menimbulkan efek kesembuhan yang paling cepat jika dibandingkan dengan pengobatan pada perlakuan yang lain.

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini memiliki waktu yang paling lama dalam penyembuhan dibandingkan dengan ketiga kelompok perlakuan lainnya. Selain harus membentuk jaringan yang baru untuk

memperbaiki jaringan yang rusak, tubuh harus menghilangkan gangguan karena kuman *Staphylococcus aureus*. Adanya kuman dalam hal ini akan menghambat proses pembentukan jaringan tubuh yang baru, karena menghambat proses homeostasis yang normal (Slatter, 1985). Proses dari pertumbuhan kuman juga membutuhkan makanan (nutrisi) yang didapat dari induk semang yang akan merugikan host, dan juga *Staphylococcus aureus* membentuk enzim dan toxin yang dapat menguraikan susunan jaringan dan bersifat membunuh terhadap sel-sel darah putih (Woolcock, 1991), sehingga kesembuhan luka akan semakin panjang.





BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian madu, mempunyai pengaruh terhadap lama waktu kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus*.
2. Pengobatan luka infeksi *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan madu menunjukkan waktu kesembuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan pemberian oksitetrasiklin, sulfanilamide dan kontrol.

Saran

1. Madu dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan pada luka infeksi *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang penggunaan madu terhadap luka infeksi selain *Staphylococcus aureus*.

RINGKASAN

ISWAN HARYANTO. Perbandingan Lama Waktu Kesembuhan Luka Infeksi Kuman *Staphylococcus aureus* dengan Pemberian Madu, Oksitetrasiklin dan Sulfanilamide pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dibawah bimbingan Ibu Anita Asali M.S., Drh sebagai pembimbing pertama dan Bapak Dr. Ir. Hari Suprpto, M. Agr. sebagai pembimbing kedua.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh Madu, Oksitetrasiklin dan Sulfanilamide topikal terhadap lama waktu kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 68 ekor dengan kisaran umur 3 bulan yang dibagi dua kelompok yaitu kelompok pertama sebanyak 36 ekor untuk menentukan dosis pengenceran kuman terendah yang dapat menginfeksi 100% hewan coba dan kelompok kedua sebanyak 32 ekor untuk mengetahui pengaruh empat perlakuan dengan delapan ulangan untuk masing-masing perlakuan. Infeksi buatan dilakukan dengan cara menginsisi sepanjang ± 1 cm hingga kedalaman mencapai *m. Longissimus dorsi*, kemudian diinokulasi dengan suspensi *Staphylococcus aureus* dengan dosis pengenceran yang telah dilakukan sebelumnya pada kelompok pertama tikus putih tersebut, sebanyak satu tetes pipet pasteur (0,05 cc) setelah timbul gejala klinis berupa kebengkakan disertai nanah yang berwarna kekuningan pada luka kemudian

dilakukan perlakuan. Perlakuan A infeksi pada hewan coba dibiarkan tanpa pengobatan. Perlakuan B luka diobati dengan menggunakan madu, Perlakuan C luka diobati dengan menggunakan oksitetrasiklin dan Perlakuan D luka diobati dengan menggunakan sulfanilamide. Pengobatan dilakukan tiga kali sehari dengan interval \pm 8 jam sampai terjadi kesembuhan. Pengobatan pada luka dengan menggunakan madu dan oksitetrasiklin (Oxiject[®]) dengan memakai *cotton bud* yang dicelup obat tersebut dan kemudian dioleskan pada luka. Sedang untuk sulfanilamide, ditaburkan diatas luka. Desain percobaan yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang menggunakan empat perlakuan dengan delapan ulangan. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil yang ditunjukkan dalam percobaan ini menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara keempat kelompok perlakuan ($p < 0,01$) dengan lama waktu pada kesembuhan luka infeksi untuk perlakuan A adalah $12,87 \pm 1,4577$ hari, perlakuan B $3,62 \pm 0,5174$ hari, perlakuan C $7,12 \pm 0,7439$ hari dan perlakuan D $8,50 \pm 1,069$ hari. Hasil yang seperti ini dapat diambil suatu kesimpulan bahwa perlakuan B menunjukkan waktu kesembuhan yang paling cepat daripada ketiga perlakuan lainnya.



DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Alfonso, R.G and N.H. Alfred. 1970. Remingtons Pharmaceutical Science. Mark Publising Company. Pensylvania. Hal 1222-1223.
- Allen D. G, 1991. Small Animal Medicine. JB Lippincott Company Philadelphia. Hal 711-734.
- Anonimus, SA. Ensiklopedia Indonesia, Edisi Khusus Vol 6, Hal 3348.
- Brander, G.C., D. M. Pugh and R. J. Bywater, 1982. Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. 4th ed. The English Language Book Science Society and Bailliere Tindall, London. Hal 405-410
- Carter, G.R. and J.R. Cole J.r, 1990. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology 5th ed. Antimicrobial Agent and Susceptibility Testing by M.M. Chengappa. Hal 479-487.
- Cottral, G.E., 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Comstock Publishing a Division o Cornell University Press. Itacha.
- Craig, C.R., and R.E. Stitzel. 1991. Modern Pharmacology. 3rd ed. Little, Brown and Company, London. Hal 687-690.
- Cruickshand, R., J.P. Duguid, B.P. Marmion, and R.H.A. Swain, 1980. Medical Microbiology. 12th ed. Churchill Livingstone. Edinburgh London New York.
- Dharmayanti, NLP I, 1996. Daya Antibakteri Madu Alami dan Ekstrak Propolis Lebah terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. FKH UA.

- Fox, J., G. Cohan, B.J. Lowe, M. Franklin, 1984. *Laboratory Animal Medicine*, Academic Press Inc, USA.
- Frazier, W.C., D.C. Westhoff, 1988. *Food Microbiology*. 4th Ed. McGraw-Hill Inc. hal 91-120.
- Goodman, L.S. and A. Gillman. 1975. *The Pharmacology Basis of Therapeutics*. 5th ed. Macmillan Publishing Co. In. New York. USA. Hal 1183-1194.
- Hahn, A.B., R.L. Barkin, S.J.K. Oestreich, 1982. *Pharmacology in Nursing*, 15th Ed. The C.V. Mosby Company St Louis, Toronto, London.
- Handoko T, B. Suharto, 1995. *Insulin, Glukagon dan Anti Diabetik Oral. Farmakologi dan Terapi*, edisi ke-4 bagian Farmakologi, FKUI, Jakarta. Hal 467-481.
- Hartman F.A.M.S., S.S. Trostle, A.A.O. Klohnen, 1997. Isolation of Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* from a Post Operative Wound Infection in a Horse. *Journal of AVMA*, Sept 1st vol. 211 no.5.
- Harvey, C.E., C.D. Newton, and A. Schwartz, 1990. *Small Animal Surgery*. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. Hal 65-113.
- Idris, Irwan, A.W.A. Dalima, 1993. *Dasar Kerja Antimikroba pada Kuman*. Medika no. 7, tahun 1997.
- Jawetz, E.J., L. Melnick and E.A. Adelberg. 1986. *Review of Medical Microbiology*. Editor Gerald Bonang. Edisi 16. EGC. Jakarta. Hal 239-244.
- Jawetz, E.J., L. Melnick and E.A. Adelberg. 1991. *Review of Medical Microbiology*. Editor Gerald Bonang. Edisi 17. EGC. Jakarta. Hal 224-226.

- Jawetz, E. J., 1995, Tetracycline in : B. G. Katzung (ed). Basic and Clinical Pharmacology. 6th ed International Edition. Lange Medical Book, Appleton and Lange, Paramount Publishing Business and Professional Group. 567-570.
- Jennings, P.B. 1984. The Practice of Large Animal Surgery. Vol I. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Hal 129-159.
- Jones L.M., N.S. Booth, 1965. Veterinary Pharmacology and Therapeutic 3th ed. Iowa University Press. Iowa. USA. Hal 929-939.
- Katzung, B.G. 1989. Farmakologi Dasar dan Klinik. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 630-633.
- Kusriningrum, 1989. Dasar Perencanaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 53-92.
- Kustantiny, A., S. Hanggari, P. Ketut dan Edinur. 1990. Studi Pemasaran Produk Jadi Hasil Lebah Madu dalam Berbagai Industri di Indonesia. Deputi Bidang Pengembangan Kekayaan Alam, BPPT. Jakarta.
- Kustantiny, A., Ketut Patra, S. Djoko, S. Hanggari, S. I-Putu, M. Rusana dan H. Oemar, 1992. Desain Alat Penurunan Kadar Air Dalam Madu. Deputi Bidang Pengembangan Kekayaan Alam, BPPT. Jakarta.
- Mariana, 1995. Sulfonamida, Kotrimoksazol dan Antiseptik Saluran Kemih, Farmakologi dan Terapi, edisi ke-4 bagian Farmakologi, FKUI, Jakarta. Hal 584-596.
- Martindale, 1989. The Extra Pharmacopeia. 29th ed. The pharmaceutical press. London. Hal 279-280.

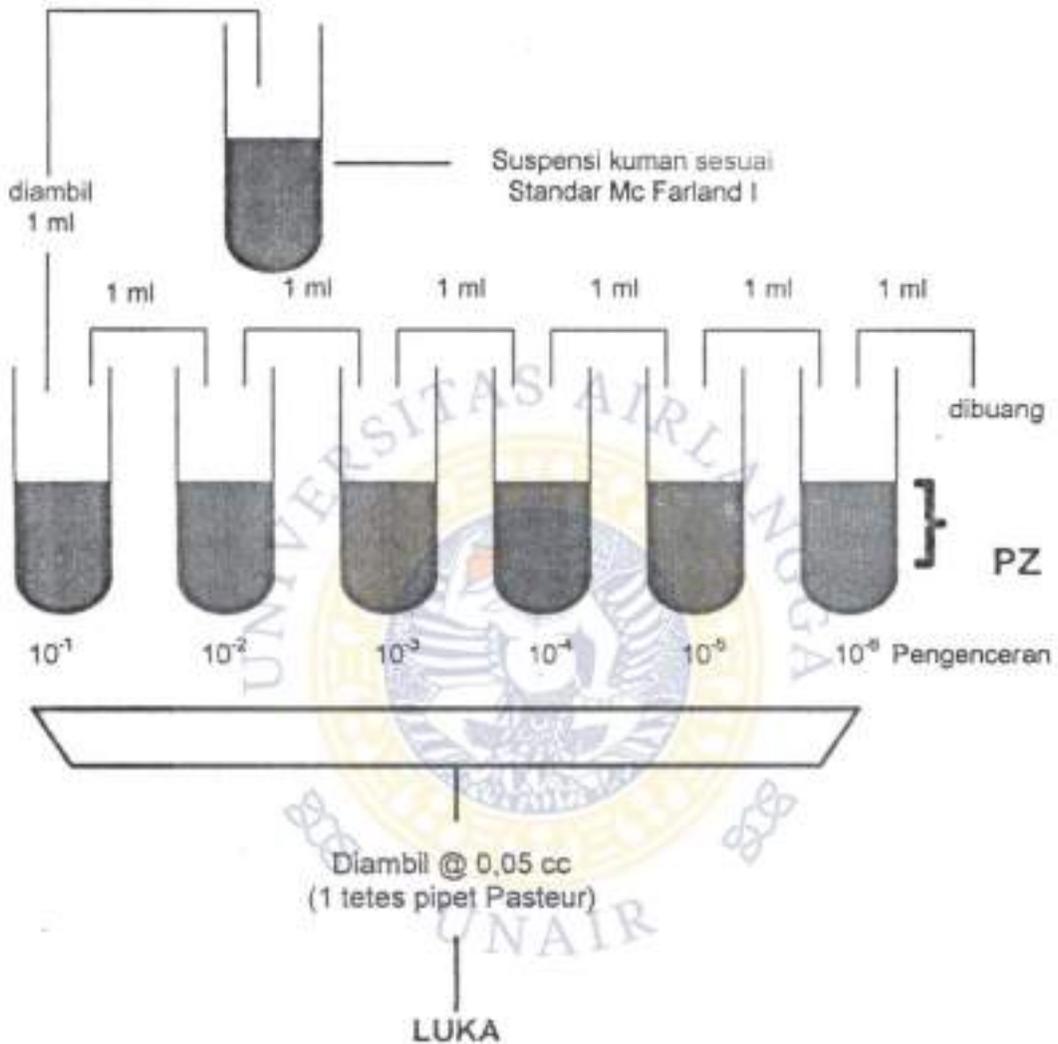
- Mashudi, P. Ketut dan S. Oding, 1998. Lebah Madu, Madu Lebah di Indonesia Tahun 2000. Penerbit Pusat Apriari Pramuka. Jakarta.
- Merchant, I.A and R.A. Packer, 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. USA. Hal 313-315.
- Mutschler. E., 1991, Dinamika Obat , Penerjemah : Widiyanto M.B., dkk, Edisi ke-5, ITB, Bandung.
- Peacock, E.E. and W.Van Winkle, 1976. Wound Repair 2nd ed. Philadelphia:W.B. Saunders Company, California, USA. 277-294.
- Price, S.A and C.M.C. Wilson. Alih bahasa oleh Dharma. A. 1993. Patofisiologi. Edisi II. Penerbit buku kedokteran. E.C.G. Jakarta.hal 31-35.
- Setiabudi, R., 1980, Golongan Tetrasiklin dan Klorampenikol. Farmakologi dan Terapi , Edisi ke-2, Bagian Farmakologi FKUI.
- Setiabudi, R., 1995, Golongan Tetrasiklin dan Klorampenikol. Farmakologi dan Terapi , Edisi ke-4, Bagian Farmakologi FKUI. Hal 651-660.
- Siegmund, O.H., C.M. Fraser, 1973. The Merck Veterinary Manual 4th ed. Merck and Co Inc. USA.
- Sihombing, D.T.H., 1997. Ilmu Ternak Lebah Madu, Gadjah Mada University Press
- Slatter, D.H., 1985. Textbook of Animal Surgery. W.B. Saunders Company Philadelphia . Hal 37-43; 431-432.

- Soltys, M.A, 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animals. 1st ed
Bailliere Tindall and Co. London. Hal 72; 79; 138-148.
- Sumoprastowo, RM dan A. Suprpto, 1993. Beternak Lebah Moderen.
Bhatara. Jakarta.
- Swaim, S.F. 1980. Wound healing. in: Surgery of Traumatic Skin.
Philadelphia. W. B. Saunders. Hal 277-293.
- Thomson, R.G. 1984. General Veterinary Phatology 2nd ed. W.B. Saunders
Philadelpia, Hal 217-280.
- Tizzard, J.R. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Edisi II. Airlangga
University Press, Surabaya. Hal 7-36.
- Warisno, 1996. Budidaya Lebah Madu. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Warsa, UK., Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1993.
Mikrobiologi Kedokteran. Binarupa Aksara , Jakarta.
- Winarno, F.G. 1981. Madu, Teknologi, Khasiat dan Analisa. Pusbangtepa
Food Technology Development Center. Institut Pertanian Bogor.
- Woolcock,. J.B., 1991. Microbiology of Animal and Animal Production.
Elsevier Science Publishing Company Inc. New York. Hal 21-103.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penentuan *Infectious Dose 50* (ID_{50})



Pengamatan: Penentuan bahwa *S. aureus* benar-benar menginfeksi tikus putih yang diinsisi dan diinfeksi dilakukan dengan melihat gejala klinis berupa peradangan dan terdapatnya nanah yang berwarna kekuningan serta dikonfirmasi dengan pemeriksaan laboratorium. Pada penentuan ID_{50} dihitung dengan metode Reed dan Muench (Cottral, 1978). Data hasil penentuan ID_{50} kemudian digunakan pada perlakuan penelitian untuk membuat infeksi buatan pada perlakuan *in vivo*.

Lampiran 2. Identifikasi Kuman *Staphylococcus aureus*

I. Pewarnaan Gram

1. Pembuatan preparat ulas kuman dan fiksasi di atas api
2. Prosedur pewarnaan Gram
3. Pewarnaan dengan *Carbol Gentian Violet* selama 3-5 menit
4. Preparat ditetesi dengan lugol selama 1-2 menit, kemudian dilunturkan dengan alkohol 96% dan selanjutnya dicuci dengan air kran.
5. Preparat diwarnai dengan cairan safranin selama 3 menit lalu dicuci dengan air kran.
6. Setelah dikeringkan preparat ditetesi dengan minyak emersi dan diperiksa dibawah mikroskop pembesaran 1000 kali.

Hasil Pemeriksaan:

bila kuman berwarna violet maka termasuk kuman Gram positif.

II. Penanaman Pada Media

Bahan yang berupa pus (nanah) yang diambil dari luka insisi pada muskulus *longissimus dorsi* tikus putih dengan menggunakan ose steril lalu ditanam pada media *Nutrient Agar* dengan cara *streak* untuk mendapatkan isolat kuman *Staphylococcus aureus* kemudian dilanjutkan dengan penanaman pada media MSA.

Lanjutan lampiran 2.

Hasil Pemeriksaan:

Terdapat pertumbuhan kuman dalam media NA yaitu berupa koloni yang bulat, permukaannya halus mengkilat, sedikit cembung, tepi koloni tidak teratur dan warna koloni dapat putih kuning jeruk atau keemasan. Pada penanaman media MSA didapatkan pertumbuhan kuman dengan perubahan warna media menjadi kuning.

Uji Katalase:

Koloni kuman *Staphylococcus aureus* yang telah tumbuh pada media umum NA diambil dengan ose steril dan diletakan pada permukaan gelas obyek yang telah ditetesi dengan H_2O_2 .

Hasil Pemeriksaan :

terbentuk gelembung-gelembung gas (positif)

Lampiran 3. Pengolahan Data Lama Waktu Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

$$FK = \frac{(257)^2}{8 \times 4} = 2064,2312$$

Rataan :

$$A = 12,875 \pm 1,4577$$

$$B = 3,625 \pm 0,5174$$

$$C = 7,125 \pm 0,7439$$

$$D = 8,500 \pm 1,069$$

$$JKT = 2435 - 2064,0312 = 370,9688$$

$$JKP = \frac{841 + 3249 + 4624 + 10609}{8} - 2064,0312 = 2310,25 - 2064,0312 = 351,3438$$

$$JKS = 370,9688 - 351,3438 = 19,625$$

Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	Fhit	Ftab 1%
Perl	3	351,3438	117,1146	167,1156**	4,57
Sisa	28	19,625	0,7008		
Total	31	370,9688			

Lampiran 4. Uji Beda Nyata Terkecil Lama Waktu Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ } 1\% (28) \quad \sqrt{\frac{2 \cdot 0,7008}{8}} \\ &= 2,763 \cdot 0,7008 \\ &= 1,1566 \end{aligned}$$

Selisih Rata-Rata Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata	Beda			BNT 1%
		x - B	x - C	x - D	
A ^a	12,875	9,25**	5,75**	4,375**	1,1566
D ^b	8,500	4,875**	1,375**		
C ^b	7,125	3,5**			
B ^c	3,625				

A
•
a
•

D
•
b
•

C
•
c
•

B
•
d
•

Uji BNT tersebut menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memiliki perbedaan yang sangat nyata. Perlakuan A mendapatkan hasil yang paling lama dalam kesembuhan berbeda sangat nyata. Perlakuan B mengalami perbedaan kesembuhan yang paling cepat daripada perlakuan yang lain.

Lampiran 5. Hasil Penentuan Dosis Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Pengenceran	Jumlah hewan coba terinfeksi	%
10^{-1}	6	100
10^{-2}	6	100
10^{-3}	4	66,66
10^{-4}	4	66,66
10^{-5}	3	50
10^{-6}	2	33,33

Pada tabel diatas terlihat bahwa pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} dapat menginfeksi 100% hewan coba. Dari hasil tersebut maka pengenceran kuman yang digunakan untuk infeksi buatan pada luka insisi adalah pengenceran terendah yang dapat menginfeksi 100% hewan coba yaitu pengenceran 10^{-2} .

