

**SKRIPSI**

**PERBANDINGAN ZONA HAMBAT EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ASAL SUSU SAPI PERAH DARI PETERNAKAN NONGKO JAJAR DAN KALI KEPITING SURABAYA**



Oleh :

**FAJAR DWI SETYAWAN**

**NIM. 060513453**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2011**

**PERBANDINGAN ZONA HAMBAT EKSTRAK DAUN SAMBILOTO  
(*Andrographis paniculata*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ASAL SUSU  
SAPI PERAH DARI PETERNAKAN NONGKO JAJAR DAN KALI  
KEPITING SURABAYA**

Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

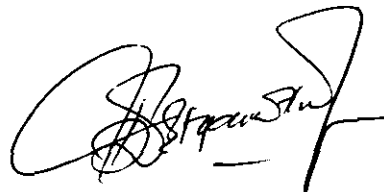
**FAJAR DWI SETYAWAN**  
060513453

Menyetujui

Komisi Pembimbing



**(Budiarto. Drh, M.P.)**  
Pembimbing Pertama



**(Setiawati Sigit, drh, M.S.)**  
Pembimbing Kedua

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Staphylococcus aureus* Asal Susu Sapi Perah dari Peternakan Nongko Jajar dan Kali Kepiting Surabaya**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 14 Desember 2010



Fajar Dwi Setyawan  
NIM. 060513453

**Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian**

**Tanggal : 18 Januari 2011**

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

- Ketua** : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.  
**Sekretaris** : Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S.  
**Anggota** : Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.  
**Pembimbing I** : Budiarto, drh., M.P.  
**Pembimbing II** : Setiawati Sigit, drh., M.S.

Telah diuji pada

Tanggal : 9 Februari 2011

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

**Ketua** : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH

**Anggota** : Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh., M.S.

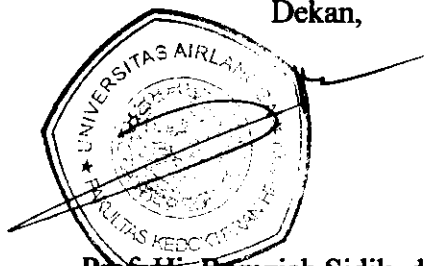
: Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

: Budiarto, drh., M.P.

: Setiawati Sigit, drh., M.S.

Surabaya, 10 Februari 2011

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D.  
NIP. 195312161978062001

**COMPARISON OF INHIBITION ZONE OF SAMBILOTO LEAF EXTRACT  
(*Andrographis Paniculata*) TOWARD *Staphylococcus aureus* THE DAIRY COWS  
MILK ORIGIN FROM NONGKO JAJAR AND KALI KEPITING CATTLE  
BREEDING**

Fajar Dwi Setyawan

**ABSTRACT**

The aim of research to determine and compare the inhibition zone of leaf extract toward *Staphylococcus aureus* bacteria at various concentration by in vitro. The research by diffusion sensitivity testing method. The object of research is isolated *Staphylococcus aureus* bacteria from the dairy cows milk and sambiloto leaf extract. The sambiloto leaf extract obtained by extraction process. This research contained four treatment. The treatment is sambiloto (*Andrographis Paniculata*) leaf extract with 125mg, 250mg, 500mg concentration which has been dissolved and control loaded in Whatman filter paper no. 1 disk paper, then placed in McFarland 1 standard bacterial suspension which have been planted on Muller Hinton as a medium for sensitivity test. Then incubated at 37°C for 24 hours. Observed variable is the formation of bacterial growth inhibition zone around the existing paper disc as a size diameter daya hambat (DDH).

Result show that sambiloto (*Andrographis Paniculata*) leaf extract with various concentration have no inhibition toward *Staphylococcus aureus* seen from no inhibition zone formation by diffusion method from the milk samples.

**Keyword :** Sambiloto, antibacterial, inhibition zone, *Staphylococcus aureus*

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Staphylococcus aureus* Asal Susu Sapi Perah dari Peternakan Nongko Jajar dan Kali Kepiting Surabaya**

Pada kesempatan ini Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, PhD., drh. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan.

Budiarto. Drh, M.P. selaku pembimbing satu dan Setiawati Sigit, drh, M.S. selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingan sampai dengan selesainya skripsi ini.

Dr. Mustofa Helmi Efendi, DTAPH., drh. selaku ketua penguji, Dr. Dewa Ketut Meles, drh, M.S. selaku sekretaris penguji dan Wiwiek Tyasningsih, drh, M.Kes. selaku anggota penguji.

Tjuk Imam Restiadi, M.Kes., drh selaku dosen wali, atas segala nasehat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ayah dan Ibu yang telah memberikan doa, semangat, dorongan untuk keberhasilan putranya. Ucapan terima kasih tidak sebanding dengan kerja keras dan pengorbanan beliau.

Teman-teman sebatiku Bayu Priyo, Firman, Bayu Kurniawan dan Iruk Sukaca serta teman-teman kos Godzilla atas segala bantuan dan doanya. Terima kasih kepada teman-teman seperjuangan 2005 yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan sehingga dengan kerendahan hati penulis tetap akan terus mengharapkan saran serta kritik yang membangun dari semua pihak pembaca. Meskipun demikian, penulis berharap bahwa tulisan ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca.

Surabaya, Januari 2011

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN IDENTITAS.....	iv
ABSTRACT.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	5
1.3 Landasan teori .....	5
1.4 Tujuan penelitian .....	6
1.5 Manfaat penelitian .....	6
1.6 Hipotesis penelitian .....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
2.1.1 Klasifikasi .....	7
2.1.2 Morfologi dan Sifat Pewarnaan .....	7
2.1.3 Pembiakan .....	8
2.1.4 Resistensi .....	9
2.1.5 Sifat Pertumbuhan .....	10
2.1.6 Patogenitas .....	10
2.1.7 Pengobatan .....	11
2.2 Tinjauan Tentang Sambiloto( <i>Andrographis paniculata</i> )... ..	12
2.2.1 Klasifikasi .....	12
2.2.2 Morfologi .....	12
2.2.3 Beberapa istilah sambiloto .....	14
2.2.3 Kandungan .....	14
BAB 3 MATERI DAN METODE .....	16
3.1 Tempat dan waktu penelitian .....	16
3.2 Materi penelitian .....	16
3.2.1 Bahan penelitian .....	16
3.2.2 Alat penelitian .....	16
3.2.3 Isolat bakteri.....	17
3.3 Metode penelitian.....	17

3.3.1	Persiapan penelitian.....	17
3.3.2	Ekstraksi daun sambiloto .....	18
3.3.3	Sterilisasi ekstraksi .....	19
3.3.4	Pengisian kertas cakram .....	19
3.3.5	Pembuatan suspensi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
3.4	Pelaksanaan penelitian .....	19
3.5	Peubah yang diamati .....	20
3.6	Skema penelitian.....	21
BAB 4 HASIL PENELITIAN .....		22
4.1	Isolasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
4.2	Pengamatan diameter daya hambat.....	25
BAB 5 PEMBAHASAN.....		28
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....		33
6.1	Kesimpulan.....	33
6.2	Saran.....	33
RINGKASAN.....		34
DAFTAR PUSTAKA.....		36
LAMPIRAN.....		40

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
3.6 Skema penelitian .....	21
4.1 Isolasi sampel pada media MSA .....	22
4.2 Pemeriksaan identifikasi bakteri .....	24
4.3 Pengamatan DDH pada media MHA Nongko Jajar .....	25
4.4 Pengamatan DDH pada media MHA Kali Kepiting .....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> dilihat dengan <i>electron micrograph</i> .....	8
2.2 Sambiloto ( <i>Andrographis paniculata</i> ) .....	13
2.3 Struktur molekul andrographolid dan deoxyandrographolide.....	14
4.1 Isolasi sampel pada MSA .....	23
4.2 Pemeriksaan bakteri.....	24
4.3 Pengamatan zona hambatan.....	27

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
2 Analisis data .....	43
3. Gambar penelitian .....	45

## DAFTAR SINGKATAN

C = celcius

MSA = Mannitol Salt Agar

MHA = Muller Hinton Agar

BA = Blood Agar

$\mu\text{m}$  = micrometer

ml = milliliter

ppm = part per million

DDH = diameter daya hambat

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Perkembangan peternakan sapi perah di Indonesia sangat pesat karena manajemen yang baik tetapi masih banyak kendala-kendala yang dihadapi oleh para peternak. Salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme.

Penyakit merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi perkembangan usaha peternakan. Penyakit yang paling sering terjadi pada sapi perah disebabkan oleh bakteri yaitu peradangan pada ambing (mastitis). Menurut Subronto (1985) mastitis sebagai suatu proses peradangan pada ambing yang dapat berlangsung secara akut, subakut, maupun kronis yang ditandai dengan kenaikan jumlah sel dalam air susu, perubahan fisik maupun susunan air susu, disertai atau tanpa disertai perubahan patologis atas kelenjarnya sendiri. Peradangan ini menyebabkan bertambahnya protein dalam darah dan sel-sel darah putih di dalam tetapan ambing. Mastitis merupakan penyakit yang sering terjadi pada sapi perah dan menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar bagi peternakan sapi perah di seluruh dunia. Menurut Inugroho dan Idiawati (2004) mastitis pada sapi perah berdampak terhadap penurunan produksi mencapai 11,4 - 45,5% per hari dan penurunan kualitas susu yang dapat dilihat dari komponen-komponen susu yang ada didalamnya. Mastitis merupakan salah satu penyakit yang memerlukan biaya tinggi terutama apabila mastitis berjalan secara subklinis (Patil *et al.*, 2005).



Salah satu penyebab utama mastitis pada sapi perah adalah *Staphylococcus aureus*. Mastitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat terjadi secara klinis namun seringkali terjadi secara subklinis dan menahun. Sementara Barkema *et al.* (1998) juga melaporkan bahwa mastitis klinis di peternakan sapi perah di Belanda disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* dan *Pseudomonas sp.*. Smith *et al.* (1998) melaporkan bahwa wabah mastitis di USA pernah disebabkan oleh agen tunggal yaitu *Staphylococcus aureus* dengan strain yang sama. Selain mengakibatkan kerugian dalam bentuk penurunan produksi susu, infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* juga tidak jarang mengakibatkan kematian hewan penderita. Adanya toksin di dalam susu sebagai hasil metabolit bakteri tersebut, yaitu toksin hemolisin alfa dan beta, yang meskipun direbus sampai 100°C selama 30 menit tetap stabil, juga merupakan ancaman bagi yang meminum susu tersebut (Quinn *et al.*, 2002).

Banyak cara yang telah dilakukan untuk pengobatan mastitis, salah satunya dengan penggunaan antibiotika. Antibiotika merupakan salah satu bahan antibakterial yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang dapat menghambat atau membasmi mikroba jenis lain sehingga dapat membantu meringankan kerja sistem pertahanan tubuh (Ganiswarna dkk., 1995).

Menurut Wattimena dkk.(1991), penggunaan antibiotika sering mengalami penyalahgunaan. Pemakaian antibiotika yang berlebihan dan pada beberapa kasus yang tidak tepat guna akan menimbulkan masalah. Masalah terjadinya resistensi terhadap antibiotik yang muncul menyebabkan beberapa bakteri mampu bertahan

hidup karena adanya perubahan genetik. Selain itu penggunaan antibiotik yang tidak tepat juga meningkatkan biaya pengobatan dan efek samping. Akibat yang ditimbulkan yaitu adanya residu antibiotika dalam susu, alergi, serta mempengaruhi proses pengolahan hasil susu. Dari hasil penelitian Sudarwanto (1993), 32,52% susu pasteurisasi dan 31,10% susu segar di wilayah Jakarta, Bogor dan Bandung mengandung residu antibiotika dalam jumlah yang cukup tinggi. Selain itu mastitis subklinis yang disebabkan oleh bakteri Gram positif semakin sulit ditangani dengan antibiotika karena bakteri ini sudah banyak yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotika (Wibawan, 1998; Wahyuni dkk., 2001).

Dengan banyaknya penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri, akan menjadi masalah bila antibiotik yang digunakan tidak lagi efektif dalam melawan bakteri-bakteri penyebab penyakit, begitu juga dengan masalah efek samping dari antibiotika itu sendiri. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif lain, misalnya dengan memanfaatkan tanaman-tanaman obat yang diduga efektif menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penyebab penyakit dan mudah didapat.

Menurut sejarah banyak tanaman obat yang telah digunakan untuk menyembuhkan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh bakteri. *Staphylococcus aureus* merupakan contoh bakteri yang perlu perhatian khusus karena kerugian yang dapat ditimbulkan oleh bakteri tersebut. Selain mudah didapat, penggunaan tanaman obat sebagai pengganti antibiotik sintetik tidak menyebabkan resistensi pada bakteri. Contoh tanaman-tanaman obat yang berkhasiat antibiotik adalah seperti bawang putih, jahe, cengkeh dan lain-lain.

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang dapat ditemukan dengan mudah dan tersedia berlimpah terutama di Indonesia yang telah dikenal sebagai salah satu obat tradisional. Sambiloto sangat mudah ditemukan karena penggunaannya yang sudah tidak asing lagi di Indonesia. Penggunaan Sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai obat biasanya diberikan dalam bentuk godogan, daun segar yang dimemarkan atau ditumbuk halus, ekstrak ataupun dalam bentuk minyak atsiri. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa sambiloto memiliki daya antibakterial terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai dipping puting pada penderita mastitis (Arimbi, 2008). Sampel yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari peternakan sapi perah di Nongkojajar dan Kali Kepiting Surabaya. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa dalam uji sensitivitas antibiotika *Staphylococcus aureus* dari Nongkojajar resisten terhadap penisilin dan ampisilin, sedangkan kebanyakan isolat *Staphylococcus aureus* dari Surabaya resisten terhadap eritromisin (Effendi, 2009).

Berdasarkan paparan diatas maka penelitian kali ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun sambiloto sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* yang diharapkan dapat menjadi pemecahan peningkatan kasus resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotika dan kedepannya dapat dijadikan alternatif pengobatan mastitis yang salah satunya disebabkan oleh bakteri tersebut. Sementara itu, penggunaan ekstrak daun sambiloto sebagai antibakteri harus terlebih dahulu dilakukan pengujian secara *in vitro*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan dapat menghambat atau tidak terhadap bakteri yang telah diisolasi

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan diatas maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah terdapat perbedaan zona hambat antara bakteri *Staphylococcus aureus* dari peternakan Nongkojajar dan Kali Kepiting Surabaya dengan pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*)?

## 1.3 Landasan Teori

Sambiloto merupakan tanaman obat tradisional yang murah dan mudah didapat. Penggunaan sambiloto sebagai obat antibakteri dapat digunakan dalam bentuk rebusan, daun segar yang dimemarkan, diambil cairannya, dan dalam bentuk ekstrak. *Andrographis paniculata* Nees. yang dikenal dengan nama sambiloto pada umumnya digunakan untuk pengobatan keracunan, obat tonsil, borok, thypus, demam. kencing manis, obat radang telinga, radang usus dan gigitan ular berbisa. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa sambiloto memiliki daya antibakterial terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai dipping puting pada penderita mastitis (Arimbi, 2008). Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa tanaman sambiloto mengandung senyawa kimia antara lain: *Diterpen lakton* yang terdiri *andrographolida*, *neoandrographolida*, *deoksi-andrographolida*, *dehidroandrographolida flavonoid*, *tanin*, *saponin* (Mishra *et al*, 2007)..

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan hambatan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pemanfaatan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang dapat digunakan sebagai alternatif antibakterial bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### **1.6 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan rumusan permasalahan yang ada, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah terdapat perbedaan zona hambat antara bakteri *Staphylococcus aureus* dari peternakan Nongko Jajar dan Kali Kepiting Surabaya dengan pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*).

## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tentang *Staphylococcus aureus*

#### 2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plant
Divisi	: Thallophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaccae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

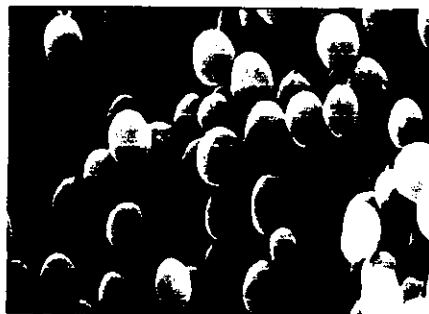
(Merchant and Packer, 1971)

Nama genus *Staphylococcus* berasal dari penampilan mikroskopisnya, sel-selnya tertata seperti buah-buah kecil dalam kelompok-kelompok tak beraturan, susunan seperti ini disebabkan oleh pembelahan sel yang terjadi secara tidak teratur pada berbagai bidang (Schlegel, 1994).

#### 2.1.2 Morfologi dan sifat perwarnaan

Nama *Staphylococcus* berasal dari bahasa Yunani "Staphyle" yang artinya rangkaian seperti buah anggur dan "coccus" yang berarti butir-butir untuk mendeskripsikan organisme yang tampak pada nanah dari infeksi pembedahan (Joklik *et al.*, 1992).

*Staphylococcus* adalah kuman yang berbentuk bulat, biasanya tersusun bergerombol seperti buah anggur, dapat pula terletak sendiri-sendiri, berpasangan, atau membentuk rantai pendek. Diameter kuman berukuran 0,8 - 1 mikron. Kuman bersifat nonmotil, tidak membentuk spora, tidak mempunyai kapsul, tidak mempunyai flagella, tumbuh dalam keadaan aerob dan fakultatif anaerob. Pada pewarnaan Gram, kuman bersifat Gram positif (Ratnasari dkk, 1993)



Gambar 2.1 Morfologi *Staphylococcus aureus* dilihat dengan *electron micrograph* (Sumber : Todar, 2005)

### 2.1.3 Pemiakan

*Staphylococcus aureus* mudah ditumbuhkan pada media umum. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37°C serta pH optimum adalah 7,2, dapat tumbuh dalam udara yang mengandung 20-30 % CO<sub>2</sub> (bersifat aerobik atau fakultatif anaerob), mencairkan gelatin, memfermentasi sejumlah karbohidrat menjadi asam serta dapat tumbuh baik pada media padat (Jawetz *et al.*, 1991)

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 37°C, tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar ( 20°C) dengan pH berkisar antara 7,4 - 7,6. *Staphylococcus aureus* pada plat agar membentuk koloni bulat, permukaannya halus mengkilat, sedikit cembung, tepi koloni teratur dan



warna koloni kuning keemasan (Joklik *et al.*, 1992). Koloni *Staphylococcus aureus* pada media padat berbentuk bulat, tepinya rata, permukaan halus, mengkilap, sedikit cembung, koloni dapat berwarna putih, kuning keemasan, atau kuning jeruk. Dalam media kaldu daging, pertumbuhannya ditandai dengan adanya endapan berwarna putih seperti serbuk yang melekat dibagian dasar tabung. Untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus* digunakan media selektif yang mengandung NaCl dan agar garam manitol (*Manitol Salt Agar / MSA*) dengan konsentrasi yang cukup tinggi (Ratnasari dkk, 1993).

#### 2.1.4 Resistensi

*Staphylococcus aureus* relatif tahan terhadap pengeringan, panas (tahan terhadap suhu 50°C selama 30 menit) dan natrium klorida 9 % tetapi mudah dihambat oleh zat-zat kimia tertentu seperti heksaklorofen 3 %. Bakteri lain pada suhu 60°C dalam 30 menit sudah mati sedangkan *Staphylococcus aureus* pada suhu 80°C selama 30 menit akan mati. *Staphylococcus* lebih tahan terhadap desinfektan dibandingkan dengan kebanyakan bakteri kecuali yang berspora. Gentian violet 1: 25000 dapat membunuh *Staphylococcus* setelah 5-10 menit. *Staphylococcus aureus* dapat juga terbunuh dengan larutan formaldehide 10 % selama 10 menit, phenol 2 % selama 15 menit dan HgCl<sub>2</sub> 0,5 % selama satu jam (Carter and Cole, 1990; Ratnasari dkk, 1993).

### 2.1.5 Sifat pertumbuhan

*Staphylococcus aureus* membentuk katalase positif yang membedakan dengan *Streptococcus*, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak menghasilkan gas, meragikan dengan lambat banyak karbohidrat (Jawetz *et al.*, 1996). Dapat menghemolisis darah dengan membentuk daerah sempit pada media agar darah, mengkoagulasi serum darah (Jawetz *et al.*, 1995).

### 2.1.6 Patogenitas

Genus *Staphylococcus* beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia dan hewan, lainnya menyebabkan pernanahan, abses, beberapa infeksi dan bahkan septikemia yang fatal. *Staphylococcus* yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma serta menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin. Kemampuan patogenik strain *Staphylococcus aureus* tertentu merupakan efek gabungan faktor-faktor ekstraseluler, toksin-toksin serta sifat invasif (Jawetz *et al.*, 1996).

*Staphylococcus aureus* sering ada pada penyakit kulit yang mengalami proses penanahan pada manusia dan hewan, dapat menyebabkan kelainan-kelainan pada kulit dan membran mukosa hewan dan manusia. Septikemia terjadi setelah adanya infeksi lokal, kemudian bakteri akan menyebar kedalam tubuh melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah (Jawetz *et al.*, 1986). Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya furunkel atau abses setempat. Bakteri berkembang biak dalam folikel rambut dan menyebabkan terjadinya nekrosis pada jaringan setempat. Bakteri berkembang

biak dalam folikel rambut dan 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 dan cairan abses. Pembentukan cairan abses diikuti dengan pembentukan jaringan granulasi (Warsa, 1993).

Beberapa jenis penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* pada hewan antara lain *pustular dermatitis* pada sapi, *canine pyoderma* pada anjing dengan faktor predisposisi trauma, kekeringan kulit, ektoparasit dan bulu yang kotor. *Mastitis* bentuk perakut, akut dan kronis pada sapi (pencemaran air susu sapi  $\pm$  70 %), *Mastitis* bentuk perakut pada kambing, *bumble foot*, *spondilitis*, dan *cellulitis* pada unggas (Ratnasari dkk., 1993).

### 2.1.7 Pengobatan

Pengobatan untuk *Staphylococcus* dengan menggunakan obat antibiotika tidak selalu memberikan hasil yang baik, karena banyak strain *Staphylococcus* yang resisten terhadap antibiotika. Sebelum diadakan pengobatan dianjurkan untuk melakukan tes kerentanan secara *in vitro* terhadap *Staphylococcus aureus*. Cara pengobatan perlu diperhatikan dan diberikan dengan dosis yang tepat. Obat antibiotika yang sering digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain adalah *Tetracycline*, *Clyndamycine*, dan kombinasi *Penicillin* dan *Streptomycin*, kombinasi *Penicillin* dan *Nitrofurazone*, serta kombinasi *penicillin* dan *tylosin* (Ratnasari dkk., 1993).

## 2.2 Tinjauan Tentang Sambiloto

### 2.2.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super division	: Spermatophyta
Division	: Angiosperma
Class	: Dicotyledonae
Sub class	: Gamopetalae
Series	: Bicarpellatae
Order	: Personales
Tribe	: Justiceiae
Family	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Species	: <i>Andrographis paniculata</i>

(Mishra *et al.* , 2007)

### 2.2.2 Morfologi

Sambiloto tumbuh liar di tempat terbuka, seperti di kebun, tepi sungai, tanah kosong yang agak lembab, atau di pekarangan. Tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Tumbuhan semusim, tinggi 50 - 90 cm, batang disertai banyak cabang berbentuk segi empat (kwadrangularis) dengan nodus yang membesar. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan bersilang, bentuk lanset, pangkal runcing, ujung meruncing, tepi rata,

permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda, panjang 2 - 8 cm, lebar 1 - 3 cm. Perbungaan rasemosa yang bercabang membentuk malai, keluar dari ujung batang atau ketiak daun. Bunga berbibir berbentuk tabung;kecil- kecil, warnanya putih bernoda ungu. Buah kapsul berbentuk jorong, panjang sekitar 1,5 cm, lebar 0,5 cm, pangkal dan ujung tajam, bila masak akan pecah membujur menjadi 4 keping, biji gepeng, kecil-kecil, warnanya coklat muda (Muchlisah, Fauziah, 2004).



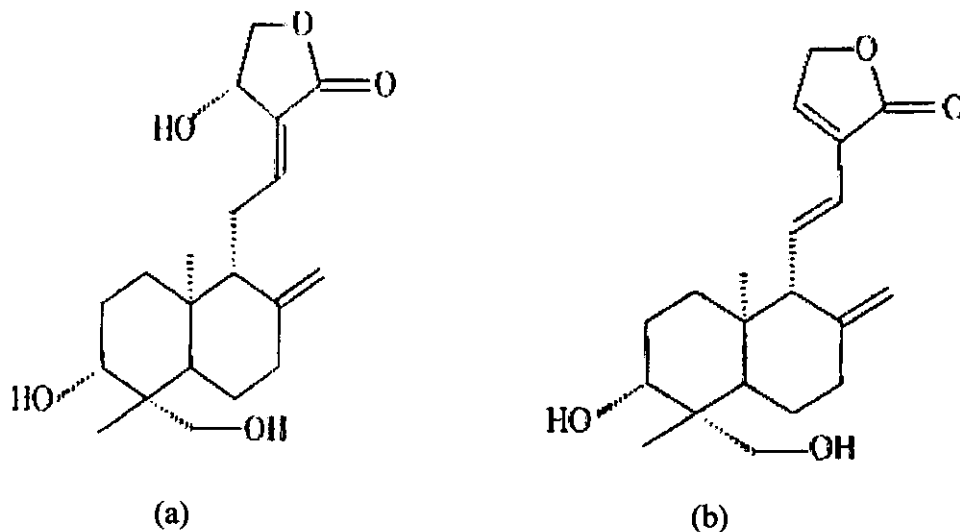
Gambar 2.2 : Sambiloto (*Andrographis paniculata*) ( sumber : Tipakorn, 2002)

### 2.2.3 Beberapa Istilah Sambiloto

Beberapa istilah sambiloto adalah Ki oray, ki peurat, takilo (Sunda). bidara, sadilata, sambilata,; takila (Jawa). pepaitan (Sumatra).; Chuan xin lian, yi jian xi, lan he lian (China), xuyen tam lien,; cong cong (Vietnam). kirata, mahatitka (India/Pakistan).; Creat, green chiretta, halviva, kariyat (Inggris) (Muchlisah, Fauziah, 2004) .

### 2.2.4 Kandungan

Daun dan percabangannya mengandung lakton yang terdiri dari deoksiandrografolid, andrografolid (zat pahit), neoandrografolid, 14-deoksi-11, 12-didehidroandrografolid, dan homo andrografolid. Sejumlah diterpenoids dan diterpenoid glycosides serupa kerangka karbonyang dipisahkan dari *Andrographis*, sebagian besar rasa yang paling pahit adalah campuran dari *andrographolide*, *neoandrographolide*, *deoxyandrographolide* (Muchlisah, 2004).



Gambar 2.3 Struktur molekul dari (a) andrographolide dan (b) deoxyandrographolide [3](sumber: Kumoro,2006)

Daun sambiloto mengandung andrographolide paling tinggi (2.39%), kebanyakan yang berhubungan dengan obat phytochemical aktif di dalam tumbuhan, pada benih memiliki kandungan paling rendah. *Andrographolide* mempunyai rasa yang sangat pahit adalah penampilan kristal jernih tanpa warna dan memiliki fungsi lactone(lactone function). Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa herba sambiloto mengandung senyawa kimia antara lain *Diterpen lakton* yang terdiri *andrographolida*, *neoandrographolida*, *deoksi-andrographolida*, *dehidroandrographolida* *flavonoid*, *tanin*, dan *saponin* (Muchlisah, 2004).

# **BAB 3**

## **MATERI DAN METODE**



## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2008 sampai Januari 2009 di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Proses ekstraksi dari sambiloto (*Andrographis paniculata*) dilakukan di laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

### 3.2 Materi

#### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang dibeli dari toko bahan jamu tradisional Pasar Wage, Nganjuk. Susu masing-masing 20 sampel yang diambil dari Peternakan Nongko Jajar - Pasuruan dan Kali Kepiting - Surabaya, Jawa Timur. *Whatman filter-paper* no.1 steril. Media selektif *Staphylococcus aureus* yaitu *Mannitol Salt Agar* (MSA), media untuk uji kepekaan bakteri *Muller-Hinton Agar* (MHA), dan *Blood Agar* (BA) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

#### 3.2.2 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi dan rak, pinset, ose steril, spatel steril, gelas alas, mikroskop, bunsen, *autoclave*, dan inkubator.

### 3.2.2 Isolat bakteri

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari isolasi yang dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dari sampel susu segar yang dibiakkan pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara *in vitro* dengan menggunakan uji kepekaan difusi dengan melihat terdapat atau tidaknya hambatan pertumbuhan di sekitar cakram. Sedangkan pengukuran daerah hambatan yaitu dengan mengukur diameter hambatan menggunakan mistar.

#### 3.3.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi peralatan

Sebelum penelitian dilaksanakan, seluruh peralatan yang akan digunakan disterilisasi dengan menggunakan *autoclave*, pada suhu 120 °C, tekanan 2 atm selama ± 20 menit.

##### b. Pembuktian *Staphylococcus aureus*

Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diisolasi sekunder pada media MSA dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Makroskopis dilihat dengan koloni bakteri pada sediaan MSA yang terlihat bulat, mengkilat, dan berwarna kuning keemasan, sedangkan uji mikroskopis dengan melakukan pewarnaan Gram yang terlihat di mikroskop bergerombol seperti buah anggur, rantai pendek, sendiri atau berpasangan dan berwarna ungu yang

menandakan Gram positif. Pada uji biokimia yaitu Uji Katalase dan Uji Koagulase Positif. Uji Katalase akan bereaksi positif bila terdapat enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung gas, hal tersebut yang membedakan dengan *Streptococcus* yang bersifat negatif. Sedangkan Uji Koagulase menandakan positif bila menunjukkan gumpalan ketika direaksikan dengan plasma darah kelinci karena memiliki enzim koagulase, hal tersebut yang membedakan dengan *Staphylococcus epidermidis* yang negatif. Ketiga cara ini sudah mencukupi untuk membuktikan *Staphylococcus aureus* sehingga tidak dilakukan lagi pemeriksaan serologis. Bila pengujian diatas membuktikan hasil positif *Staphylococcus aureus* maka koloni hasil pemupukan MSA ini akan digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

### 3.3.2 Ekstraksi daun sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Ekstraksi daun sambiloto menggunakan metode maserasi. Daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang telah dikeringkan 0.5 kg dijadikan serbuk ditempatkan dalam botol dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 1.5 liter. Botol yang berisi campuran tersebut diletakkan pada *shaking water bath* dengan suhu 50°C selama 48 jam setelah itu larutan tersebut disaring dengan kertas filter dan residu kembali diberi etanol 96% didiamkan kemudian disaring kembali dengan kertas filter hal ini dilakukan 3-4 kali. Filtrat (etanol cair) dari penyaringan tadi dimasukkan ke *rotary evaporator* pada suhu 50°C (diuapkan) sampai didapatkan residu kering. Residu (serbuk) ini yang digunakan pada penelitian ini.

### 3.3.3 Sterilisasi ekstraksi

Sterilisasi ekstraksi ini menggunakan saringan millipore dengan diameter 0.45  $\mu\text{m}$ . Hal ini dimaksudkan supaya kuman tidak bisa masuk melewati saringan tersebut. Kegiatan ini dilakukan di Lamina Air Flow (LAF).

### 3.3.4 Pengisian kertas cakram

Pertama kali dilakukan persiapan kertas cakram yaitu sterilisasi kertas *Whatman filter paper* No. 1 dengan *autoclave* (Lalitha, 2004). Ekstrak sambiloto yang sudah dilarutkan dalam larutan yang terdiri dari 1 cc alkohol ditambah 69 cc aquades kemudian kertas disk dimasukkan kedalam larutan ekstrak tersebut.

### 3.3.5 Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Isolasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah dibiakkan di media *Mannitol Salt Agar* (MSA) diambil sebanyak empat sampai lima koloni dengan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi lima mililiter PBS atau PZ. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama dua jam, akan terlihat kekeruhan yang setara dengan standar *Mc Farland* 1 dengan konsentrasi  $3 \times 10^8$  / ml. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu :  $10^5 - 10^8$  /ml (Carter and Cole, 1990).

## 3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pada Media *Muller - Hinton Agar* (MHA) dituangkan suspensi bakteri *Staphyococcus aureus* yang telah dibuat sebanyak 1 ml pada permukaan media

tersebut, kemudian diratakan dengan spatel steril dan dibiarkan selama 5-10 menit agar bakteri menempel pada permukaan media. Setiap media yang telah terisi suspensi bakteri tersebut kemudian diisi dengan kertas cakram masing-masing perlakuan, yaitu:

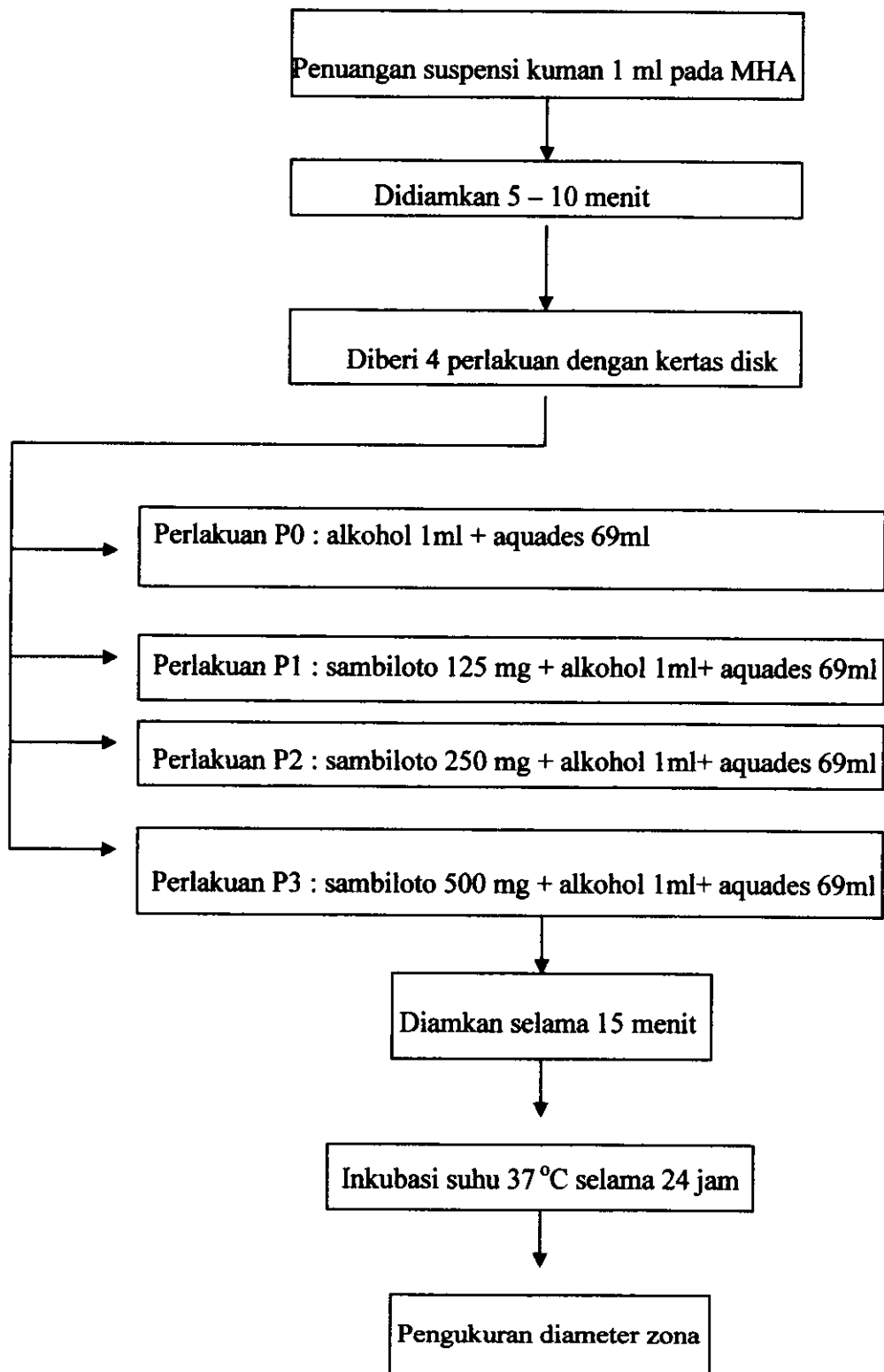
- Kontrol (P0) : alkohol 1ml + aquades 69ml
- Perlakuan I (P1) : sambiloto 125 mg + alkohol 1ml + aquades 69ml  
(1ml = 1785.7 ppm)
- Perlakuan II (P2) : sambiloto 250 mg + alkohol 1ml + aquades 69ml  
(1ml = 3571.4 ppm)
- Perlakuan III (P3) : sambiloto 500 mg + alkohol 1ml + aquades 69ml  
(1ml = 7142.8 ppm).

Inkubasi masing-masing media pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian amati daerah hambatan pertumbuhan kuman yang ada di sekeliling kertas cakram dan selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona terang (*clear zone*) dengan menggunakan mistar (Jhonson *and* Case, 1989).

### 3.5 Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini yaitu terbentuknya daerah hambatan pertumbuhan bakteri yang ada di sekeliling kertas cakram berupa ukuran Diameter Daya Hambat (DDH), pengukuran dilakukan dengan mistar pada zona yang terbentuk.

### 3.6 Skema Pelaksanaan Penelitian



## **BAB 4**

# **HASIL PENELITIAN**

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

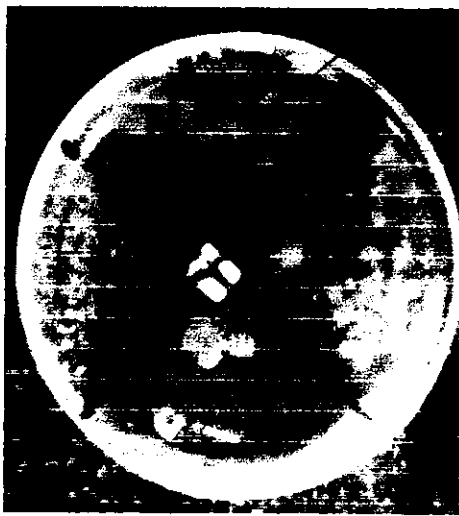
### 4.1 Isolasi *Staphylococcus aureus*

Hasil dari dua puluh sampel susu yang diambil kemudian diisolasi pada media MSA terlihat bahwa :

**MSA Tabel 4.1. Isolasi sampel pada media**

NO.	WARNA MSA	KOLONI
1	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
2	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
3	Merah kekuningan	sedikit, koloni berwarna kuning keemasan
4	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
5	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
6	Merah kekuningan	sedikit, koloni berwarna kuning keemasan
7	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
8	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
9	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
10	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
11	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
12	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
13	Merah kekuningan	sedikit, koloni berwarna kuning keemasan
14	Merah kekuningan	sedikit, koloni berwarna kuning keemasan
15	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
16	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
17	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih
18	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
19	Kuning	tumbuh, koloni berwarna kuning keemasan
20	Kuning	tumbuh, koloni berwarna putih

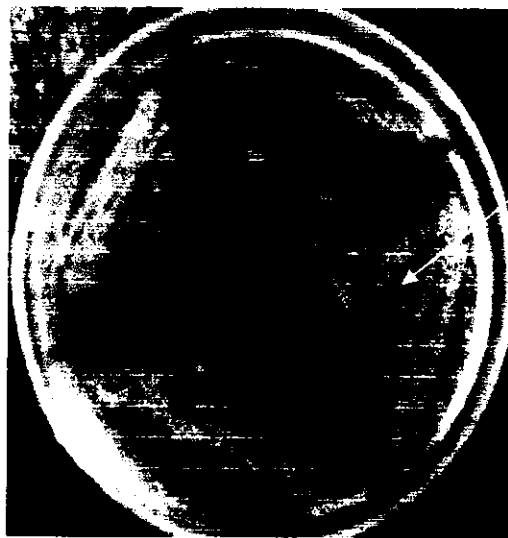




A



B



C

Gambar 4.1 Isolasi sampel pada media MSA: pada gambar C : bakteri memfermentasi manitol, pada gambar B: → bakteri tidak dapat memfermentasi manitol

Sampel yang dicurigai *Staphylococcus aureus* diambil dua koloni dari masing-masing bakteri kemudian ditanam kembali pada media MSA. Setelah itu diuji

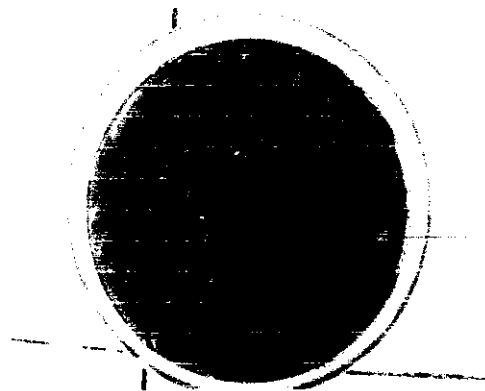
kembali dengan uji identifikasi meliputi pewarnaan gram, uji katalase, uji hemolisis, dan uji koagulase. Hasil pengujian tersebut sebagai berikut :

**Tabel 4.2 Pemeriksaan untuk identifikasi *Staphylococcus aureus***

PEMERIKSAAN	KOLONI BAKTERI					
	1	2	3	4	5	6
Warna MSA	kuning	kuning	merah	kuning	merah	kuning
Mikroskopis	coccus	coccus	coccus	coccus	coccus	coccus
Gram +	+	+	-	+	-	+
Katalase	+	+	-	+	-	+
Koagulase	+	-	-	-	-	+



a



b

Gambar 4.2. Pemeriksaan bakteri, gambar a: → terlihat gelembung gas pada uji katalase; b: → terbentuk hemolisis bakteri pada media *blood agar*

Koloni 1,2,4 dan 6 diisolasi kembali pada media *blood agar* untuk mengetahui tipe hemolisis, kemudian diketahui hasilnya adalah tipe  $\beta$  hemolisis. Koloni 1 dan

6 merupakan positif *Staphylococcus aureus*, oleh karena itu koloni tersebut dipakai untuk pengujian selanjutnya.

#### 4.2 Pengamatan Diameter Daya Hambat

Pengamatan selanjutnya adalah menghitung Diameter Daya Hambat (DDH) pada media MHA yang telah diisi dengan kertas disk. Kertas disk diisi larutan ekstrak sambiloto dengan konsentrasi berbeda yang telah dibuat sebelumnya. Hasil difusi disk tersebut adalah seperti tabel di bawah ini :

**Tabel 4.3 Penghitungan DDH pada media MHA Nongko Jajar**

Perlakuan	Rataan ± Simpangan baku
PO(kontrol)	8.4± 1.140175
P1(sambiloto 125 mg)	9.4± 1.140175
P2(sambiloto 250 mg)	8.6± 1.140175
P3(sambiloto 500 mg)	9.6± 1.949359

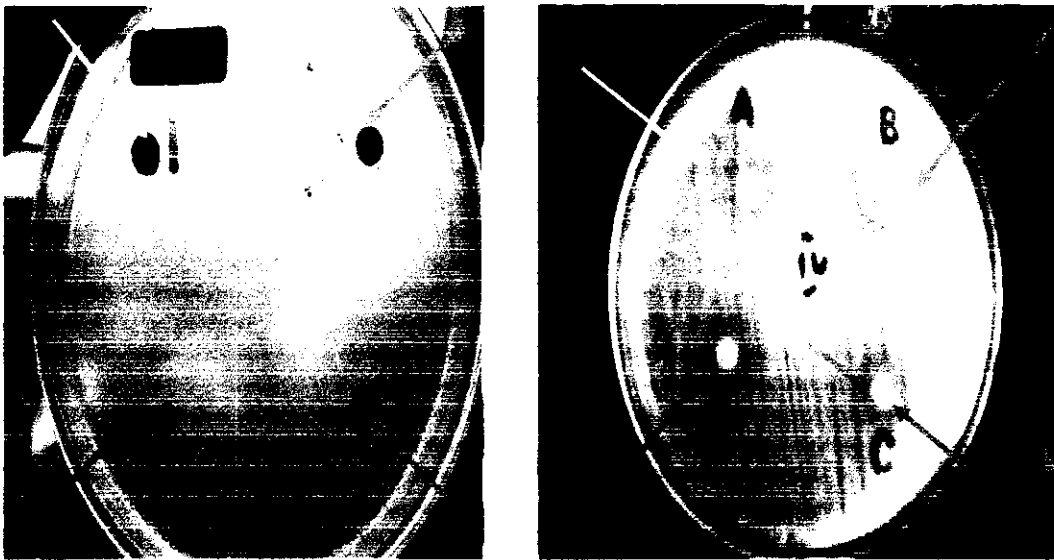
Pada Tabel 4.3 menunjukkan rata-rata diameter daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap *Staphylococcus aureus* dari peternakan Nongkojajar setelah diberikan perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda tetapi tidak terlalu signifikan. Tertinggi 9.6% pada P3 dan terendah 8.4% pada P0.

Hasil analisis data menggunakan ANAVA pada lampiran 2 ternyata terdapat perbedaan yang tidak nyata (tidak signifikan) diantara perlakuan terhadap hasil pengamatan sebab  $F_{hitung} < F_{tabel}$  0.05

**Tabel 4.4 Penghitungan DDH pada media MHA Kali Kepiting**

<b>Perlakuan</b>	<b>Rataan ± Simpangan baku</b>
PO(kontrol)	0 ± 0
P1(sambiloto 125 mg)	0 ± 0
P2(sambiloto 250 mg)	0 ± 0
P3(sambiloto 500 mg)	0 ± 0

Pada Tabel 4.4. menunjukkan rata-rata diameter daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap *Staphylococcus aureus* dari peternakan Kali Kepiting setelah diberikan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan dikarenakan hasil dari perlakuan tersebut tidak terdapat zona hambatan.



a

b

Gambar 4.3 Pengamatan zona hambatan. Gambar a) bakteri *Staphylococcus aureus* dari nongko jajar: DDH cakram kontrol, dan DDH cakram yang berisi 125mg, 250mg, dan 500mg ; b) bakteri *Staphylococcus aureus* dari kali kepinging : DDH cakram kontrol dan DDH cakram yang berisi 125mg, 250mg, dan 500mg

# **BAB 5**

## **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Hasil penelitian diperoleh dari dua puluh sampel susu yang diambil ternyata terdapat dua dari sampel mengandung *Staphylococcus aureus* penyebab utama mastitis pada sapi perah. Mastitis subklinis menjadi masalah yang penting bagi peternak karena sapi tidak menunjukkan gejala sakit tetapi produksi susu turun dan kualitas susu menjadi berkurang karena adanya bakteri tersebut (Omoe *et al.*, 2002). Hal tersebut dapat terlihat dari dua puluh sampel pada uji identifikasi awal pada media MSA. Lima dari sampel tersebut memperlihatkan koloni kuman yang tumbuh pada media MSA. Media MSA atau Mannitol Salt Agar merupakan media selektif untuk menemukan *Staphylococcus aureus* dari campuran kultur-kultur (Fox, 2000). Media ini mengambil keuntungan dari kemampuan *Staphylococcus aureus* untuk tumbuh dalam media yang mengandung NaCl 15% dan kemampuan memfermentasi mannitol. Menurut Bruckler (1994) bakteri yang dapat memfermentasi MSA dari merah menjadi kuning adalah bakteri yang bersifat pathogen yang diduga kuat *Staphylococcus aureus*. Isolat juga memperlihatkan *Staphylococcus aureus* yang koloninya berwarna kuning keemasan, berbeda dengan *Staphylococcus epidermidis* yang koloninya berwarna putih.

Isolat yang diduga *Staphylococcus aureus* tersebut kemudian diuji dengan uji identifikasi meliputi uji katalase, uji koagulase, pemeriksaan Gram, pengamatan hemolisis. Uji hemolisis digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* yang dapat menghemolisis darah dengan terbentuknya

zona bening dan yang tidak dapat menghemolisa darah ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening pada media blood agar (Todar, 2005). Uji katalase dilakukan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*. Hasil penelitian terlihat bahwa sampel menunjukkan katalase positif ditunjukkan dengan adanya gelembung gas pada koloni dengan penambahan  $H_2O_2$  yang menunjukkan koloni mengandung enzim katalase. Pada perwarnaan Gram, kuman Gram positif yang dinding selnya terdiri dari polysakarida tidak dapat dilunturkan oleh alkohol, sehingga kuman berwarna biru atau keunguan. Berbeda dengan kuman Gram negatif yang berwarna merah. Reaksi koagulase positif, sangat penting untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *Staphylococcus* yang lain (Brückler *et al.*, 1994). Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Faktor koagulase (*coagulase reacting factor*, CRF) serum bereaksi dengan koagulase untuk menghasilkan esterase dan aktivitas pembekuan dengan cara sama seperti pengaktifan protrombin menjadi trombin (Jawetz *et al.*, 1982; Joklik *et al.*, 1992).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi agar. Metode ini merupakan salah satu cara yang banyak dipakai untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai bahan antibakteri. Disini digunakan cakram kertas saring yang mengandung suatu bahan antibakteri yang telah di isikan sebelumnya kemudian diletakkan pada media agar yang telah ditumbuhkan bakteri yang akan diperiksa yaitu *Staphylococcus aureus*. Prinsip dasar dari



metode difusi ini adalah bahan antibiotik atau sejenisnya yang dimasukkan pada kertas disk meresap seluruhnya kemudian ketika diletakkan pada media, cakram menyerap air dari agar dan cakram akan berdifusi ke dalam media tersebut. Bakteri yang mudah terpengaruh oleh antibiotik atau bahan sejenisnya diindikasikan dengan adanya zona bening dari proses hambatan di sekitar cakram. Diameter dari zona tersebut bersifat proporsional tergantung dari sifat bakteri tersebut (Lalitha, 2004).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, sambiloto mengandung bahan aktif yaitu diterpena. Diterpena adalah bahan penting dalam tanaman yang mengandung unsur pengobatan. Diterpena terdiri dari kumpulan isoprena bertitik didih tinggi yang disebut resin, suatu bahan yang tinggal selepas proses penyulingan. Bahan diterpena yang terdapat pada sambiloto adalah andrographolide, neoandrographolide, deoxyandrographolide. Selain itu terdapat kandungan pytokimia lain pada tumbuhan tersebut yaitu 14-deoxyandrographolide, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (Mishra *et al*, 2007). Androgapolid mempunyai rasa yang sangat pahit, penampilan kristal jernih tanpa warna dan memiliki fungsi lactone(lactone function). Daun sambiloto terbukti mampu meningkatkan pertahanan tubuh terhadap infeksi. Hal ini ditandai dengan peningkatan neutrofil, limposit dan perbaikan jaringan paru-paru, hati dan ginjal mencit percobaan (Mayasari, 2003).

Hasil uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dengan konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada table 4.3 dan table 4.4. Pada tabel 4.3. hasil dari Penghitungan DDH

pada media MHA Nongko Jajar dapat dilihat bahwa rata-rata tertinggi terdapat pada P3 dibandingkan PO, P1, dan P2 meskipun perbedaan tidak terlalu signifikan. Hasil analisis data menggunakan ANAVA pada lampiran 2 ternyata terdapat perbedaan yang tidak nyata (not signifikan) diantara perlakuan terhadap hasil pengamatan sebab  $F_{hitung} < F_{tabel}$  0.05. Pada tabel 4.4 menunjukkan Rataan diameter daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap *Staphylococcus aureus* dari peternakan Kali Kepiting setelah diberikan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan dikarenakan hasil dari perlakuan tersebut tidak terdapat zona hambatan

Hasil dari penelitian adalah zona hambatan pada cakram yang mengandung ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi yang berbeda pada kedua sampel dari peternakan yang berbeda tidak memperlihatkan kepekaan *staphylococcus aureus* terhadap ekstrak daun sambiloto tersebut. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa sambiloto memiliki daya antibakterial terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai dipping puting pada penderita mastitis (Arimbi, 2008). Tetapi dengan kedua percobaan dari 2 sampel susu yang diambil dari dua tempat yang berbeda menunjukkan hasil bahwa uji sensitivitas antimikrobia secara invitro menghasilkan suatu gambaran bahwa sambiloto tidak mempunyai daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil tersebut terjadi perbedaan, alasan yang dapat diajukan mungkin karena kandungan ekstrak dalam masing-masing kertas cakram. Alasan lain yang dapat diajukan yaitu bakteri yang digunakan dalam penelitian kemungkinan telah diberi pengobatan dengan berbagai antibiotik sehingga menyebabkan bakteri tersebut resisten (Tipakorn, 2002).

Melihat hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak daun sambiloto tidak mempunyai daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dilihat dari tidak terbentuknya zona hambatan dengan metode difusi agar dari sampel susu.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak sambiloto tidak mempunyai kemampuan menghambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari susu secara *in vitro* di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

### 6.2 Saran

1. Ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) tidak dapat digunakan sebagai obat antibakteri untuk penyakit mastitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*
2. Perlu diteliti tentang pengujian secara *in vitro* ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap bakteri selain *Staphylococcus aureus*

# RINGKASAN

## RINGKASAN

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama mastitis pada sapi perah yang menyebabkan kerugian ekonomi akibat penurunan produksi susu 11,4-45,5% per hari dan penurunan kualitas susu. Banyak cara dalam pengobatan mastitis salah satunya dengan penggunaan antibiotika merupakan cara yang masih sering digunakan walaupun saat ini *Staphylococcus aureus* diteliti telah resisten terhadap beberapa antibiotika. Penyebab resistensi adalah penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pada beberapa kasus tidak tepat guna. Masalah resistensi terhadap antibiotik yang muncul menyebabkan beberapa bakteri mampu bertahan hidup karena adanya perubahan genetik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Staphylococcus aureus* yang telah diisolasi dari susu secara *in vitro* dengan terbentuknya zona hambat pada sekitar kertas disk yang diletakkan pada media Muller Hinton Agar untuk selanjutnya diharapkan penggunaan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dapat menjadi alternatif pemecahan masalah mastitis yang salah satunya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu isolasi bakteri dari susu, identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan uji *succeptibility* ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Sampel susu yang telah diambil diisolasi pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Media MSA yang berubah warna menjadi kuning dan koloni yang tumbuh terlihat berwarna kuning keemasan dibiakkan kembali di media MSA

yang baru kemudian diinkubasi untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan identifikasi. Hasil pemeriksaan yang memperlihatkan ciri-ciri *Staphylococcus aureus* yaitu Gram positif, secara mikroskopis bakteri berbentuk *coccus* bergerombol atau memisah, katalase positif, dan koagulase positif diisolasi kembali untuk pemurnian *Staphylococcus aureus*. Pengamatan efektifitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dilakukan dengan metode difusi agar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara *in vitro*, yaitu ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 125mg, 250mg, 500mg menggunakan metode difusi agar tidak dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dari sampel susu.

Berdasar hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) tidak memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dari sampel susu secara *in vitro*.



# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Arimbi dan Sabdoningrum, Emy Kustanti. 2008. Daun Sambiloto Sebagai Bahan Aktif Dipping Dalam Pengendalian Kasus Mastitis pada Sapi Perah. *Veterinaria Medika*. Vol 1 no. 2.
- Barkema, H. W., Y. H. Schukken, Lam, T. J. G. M., Beiboer, L. M., Wilmink, H., Bonedictus, G., and Brand, A., 1998. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categorie by bulkmilk somatic cell counts. *J. Dairy. Sci.* 81, 411-419.
- Brückler, J., Schwarz, S., Untermann, F., 1994. Staphylokokken-Infektionen und Enterotoxine, Band. II/1, In Blobel, H. und Schließer (eds.), *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*, 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Carter, G. R. and J. R. Cole, Jr. 1990. *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology*. 5<sup>th</sup> ed. Academic Press Inc. San Diego California. 108 – 123.
- Effendi, Mustofa Helmi. 2009. Peta Resistensi Antibiotika *Staphylococcus aureus* dari Kasus Mastitis Sapi Perah di Beberapa Daerah Peternakan. *Media Kedokteran Hewan*. Vol. 24 no. 3.
- Fox, M. T. 2000. *Identification of Gram Positive bacteria : Normal Flora Staphylococci*. *Microbiologi Course Schedule* (<http://web.idstate.edo.them/micro/schedule.html>).
- Ganiswarna, G Sulistia, Setiabudy Rianto, D. Suyatna, Purwastyastuti, Nafrialdi. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Inugroho dan Idiawati. 2004. *Penguasaan dan Pemanfaatan Inovasi Teknologi Pengkayaan Pakan Sapi Potong/Sapi Perah*. Lokakarya Nasional Sapi Potong. Bogor.
- Jawetz, E., J.L. Melnick. And E.A. Adelberg. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 14. Penerbit Buku Kedokteran E.G.C. Jakarta : 239-244.
- Jawetz, E., J.L. Melnick. And E.A. Adelberg. 1991. *Review of Medical Microbiology*, Editor : Gerard Bonang, 16<sup>th</sup> Ed. ECG. Jakarta : 239-244.
- Jawetz, E., J.L. 1995. *Tetracyclines*. In : Bertram G. Katzung (ed). *Basic and Clinical Pharmacology*. 6th ed. International Edition. A Lange medical

- Book. Appleton and Lange, Paramount Publishing Bussiness and Profesional Group : 576-570
- Jawetz, E., J.L. Melnick. And E.A. Adelberg.1996. Edisi X. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran E.C.G. Jakarta : 211-217
- Joklik, W. K., H. P. Willett, D. B. Amos, and C. M. Wilfert, 1992. Zinsser Microbiology. 20<sup>th</sup> ed. Appleton and Lange. California. Pp.
- Kurnia, Dwi Lestari. 2003. Perbandingan Daya Antibakterial Perasan Bunga, Daun Cengkeh dan Klindamisin Terhadap *S. aureus* Secara *In Vitro*.. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kumoro, A.C and Hasan, Masitah. 2006. Modelling of Andrographolide Extraction from *Andrographis Paniculata* Leaves in a Soxhlet Extractor. University of Malaya.Putrajaya.Malaysia.
- Lalitha, M. K. Manual on Antimicrobial Suceptibility Testing. 2004. Department of Microbiology Christian Medical College Vellore, Tamil Nadu. <http://www.merck.com/mrl/studies/smart.html> (17 Juni 2010).
- Mayasari. 2003 .Sambiloto sebagai Bahan Antibakterial. Univesitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Merchant, I.A. and R.A. Packer. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7<sup>th</sup> ed. The Iowa University Press. Ames. Iowa. USA : 78 – 79 ; 109 – 111 ; 237 – 247.
- Mishra K.Siddharta, Neelam S. Sangwan and Ranjender S. Sangwan.2007. Plant Review: *Andrographis paniculata* (Kalmegh). Pharmacognosy Reviews : Vol 1, Issue 2, Jul-Dec, 2007.Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants (CIMAP), P O CIMAP, Luckow-226015 U P India
- Muchlisah, Fauziah. 2004. Taman Obat Keluarga (TOGA). Cetakan 11. Penebar Swadaya. Jakarta ; 68-71.
- Patil R.L., S. Prasanna Kumar, V.B. Shettar, Sudhindra and S.S. Honnappagol. 2005. *Epidemiology Of Subclinical Mastitis In Buffaloes Under Field Conditions Of Bidar, Karnataka State (India)*. Buffalo Bulletin Vol.24 No.4 (December 2005 ) p. 91-97.
- Quinn, P.J. and M.M. E. Carter. 2002. Chapter I : *Veterinary Microbiologi and Microbial Disease*. A Blackwell Publishing Company.
- Ratnasari, R., Sudarno dan Suryanie, S. 1993. Diktat Ilmu Penyakit Bakterial. Fakultas Kedokteran Hewan. UNAIR. Surabaya : 28-37.

- Schelgel, Hans G. 1994. Mikrobiologi Umum. Edisi VI. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Siregar, S. 1989. Sapi Perah, Jenis, Teknik Pemeliharaan dan analisa Usaha. Edisi ketiga. P.T Penebar Swadaya.
- Smith, T.H., Lawrence K.F., and Middleton, J.R. 1998. Outbreak of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a closed dairy herd. *JAVMA*. 212, 553-556.
- Subronto. 1985. Ilmu Penyakit Ternak I. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Sudarwanto M. 1993. Mastitis subklinis dan cara diagnosa. Makalah dalam Kursus Kesehatan Ambing dan Program Pengendalian Mastitis. IKA-IPB.
- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea., 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : 234 – 235
- Tipakorn, Naiyana. 2002. Effects of *Andrographis paniculata* (Brum. F.) nees on Performance, Mortality, and Coccidiosis in Broiler Chickens. Georg-University. Gottingen, Germany. 47-49.
- Todar, Kenneth. 2005. *Staphylococcus*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/00001456.htm> (12 Juni 2008)
- Wahyuni, A.E.T.H., F. Khurniawati., B. Purnomo., I. Ramadhani dan I W.T. Wibawan. 2001. Distribusi serotipe *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis pada Sapi Perah di Jawa. *Konggres Nasional Bersama (PETRI Vii, PERPARI IV, PERMI VIII, PKWI IV)*. Yogyakarta 11-15 Juli 2001
- Warsa, UK. 1993. Mikrobiologi Kedokteran. Universitas Indonesia. Binarupa Aksara. Jakarta
- Wattimena, JR., Sugiarto, C. Nelly., B.M. Widiyanto M., Sukanto, T.M. Elly., Soemardji, Andreanus dan Setiadi., 1991. Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik. Gajah Mada University Press. Yogyakarta

**Wibawan, I.W.T. 1998. The Possibility of Using Vaccine to Control Bovine Subclinical Mastitis and Human Neonatal Infection Caused by Group B Streptococci. *Media Veteriner* 5:1-6**

# LAMPIRAN

## LAMPIRAN 1. Identifikasi kuman *Staphylococcus aureus*

### 1. Pewarnaan Gram

1. pembuatan sediaan oles dan fiksasi diatas api sampai kering.
2. mewarnai dengan kristal violet selama dua menit.
3. membuang sisa zat warna dan cuci dengan air kran
4. menuangkan larutan lugol dan biarkan selama 1-2 menit
5. membuang sisa lugol dari gelas alas dan cuci dengan air
6. kemudian dilunturkan dengan alcohol 96% atau alcohol aceeton 10-20 detik sampai zat warna hilang
7. cuci dengan air kran
8. preparat diwarnai dengan cairan safranin dan biarkan selama 30 detik
9. membuang sisa safranin dan dicuci dengan air kran
10. setelah dikeringkan dengan kertas, saring, orepapat ditetesi dengan minyak emersi dan selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali.

Hasil : bila kuman berwarna violet maka termasuk kuman Gram positif ( + )

### 2. Penanaman pada media

- bahan berasal dari peternakan sapi perah Nongko jajar dan Kali Kepiting Surabaya diambil menggunakan ose steril, lalu ditanam

pada media selektif mannitol salt agar (MSA) dengan cara streak untuk membuktikan bahwa isolate kuman tersebut adalah *Staphylococcus aureus*.

Hasil :penanaman kuman dalam media MSA didapatkan pertumbuhan kuman dengan perubahan warna media menjadi kuning

### 3. Uji katalase

- koloni kuman *Staphylococcus aureus* yang telah tumbuh pada media nutrient agar (NA) diambil dengan menggunakan ose steril dan diletakkan di atas permukaan gelas obyek yang telah ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

hasil : terbentuk gelembung-gelembung gas menandakan positif (+)

### 4. Uji koagulase

- plasma darah kelinci satu cc dicampur dengan satu cc suspensi kuman *Staphylococcus aureus*. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37 C selama 24 jam kemudian diamati .

hasil : terjadi penjendalan (+)



**5. Penanaman pada media blood agar (BA)**

- koloni kuman yang tumbuh pada media MSA diambil dengan ose steril kemudian ditanam pada media blood agar (BA) lalu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 C kemudian amati

**hasil : terdapat zona bening merupakan tipe Beta hemolisis**

## LAMPIRAN 2 : analisis data

Data penelitian satuan dalam (mm)

no	Sambiloto 125mg	Sambiloto 250mg	Sambiloto 500mg	kontrol	
1	11	8	9	7	
2	8	10	12	9	
3	9	9	9	8	
4	10	7	7	10	
5	9	9	11	8	
total	47	43	48	42	180

$$JKT = JK \text{ total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \frac{y_{..}^2}{t \times n}$$

$$JKP = JK \text{ perlakuan} = \sum_{i=1}^t \frac{y_{i.}^2}{n} - \frac{y_{..}^2}{t \times n}$$

$$FK = \text{Faktor koreksi} = \frac{y_{..}^2}{t \times n}$$

$$JKG = JKT - JKP$$

$$KTP = \frac{JKP}{t-1}$$

$$KTG = \frac{JKG}{t(n-1)}$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KTP}{KTG}$$

$$FK = \frac{47+43+48+42}{4 \times 5} = \frac{180^2}{20} = \frac{32400}{20} = 1620$$

$$JKT = 11^2 + 8^2 + 9^2 + 10^2 + 9^2 + 8^2 + 10^2 + 9^2 + 7^2 + 9^2 + 9^2 + 12^2 + 9^2 + 7^2 + 11^2 + 7^2 + 9^2 + 8^2 + 10^2 + 8^2 - FK$$

$$= 121 + 64 + 82 + 100 + 81 + 64 + 100 + 81 + 49 + 81 + 81 + 144 + 81 + 49 + 121 + 49 + 81 + 64 + 100 + 64 - FK$$

$$= 1656 - 1620 = 36$$

$$JKP = \frac{47^2+43^2+48^2+42^2}{5} - \frac{180^2}{20}$$

$$= \frac{8126}{5} - \frac{180^2}{20} = 1625.5 - 1620 = 5.2$$

$$JKG = 36 - 5.2 = 30.8$$

$$KTP = \frac{5.2}{5} = 1.734$$

$$KTG = \frac{30.8}{16} = 1.925$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{1.734}{1.925} = 0.9$$

#### ANAVA

S.K	d.b	J.K	K.T	F hitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	5.2	1.734	0.9	3.24	5.74
Galat percobaan	16	30.8	1.925			
Total	18	36				

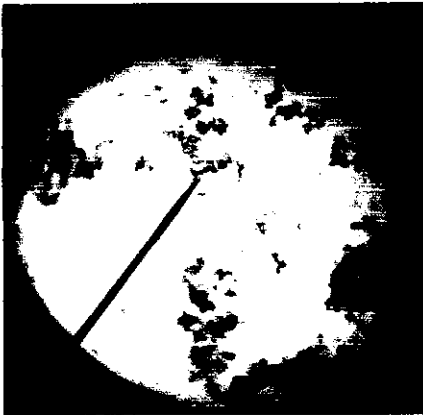
$$F \text{ hitung} = 0.9$$

$$F \text{ tabel } 0.05 = 3.24$$

Kesimpulan  $F \text{ hitung} < F \text{ tabel}$

Maka  $H_0$  diterima,  $H_1$  ditolak artinya terdapat perbedaan yang tidak nyata (tidak signifikan) diantara perlakuan terhadap hasil pengamatan

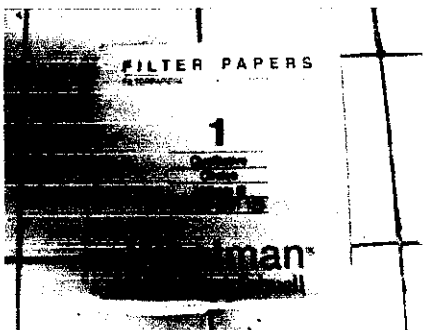
LAMPIRAN 3 : Gambar penelitian



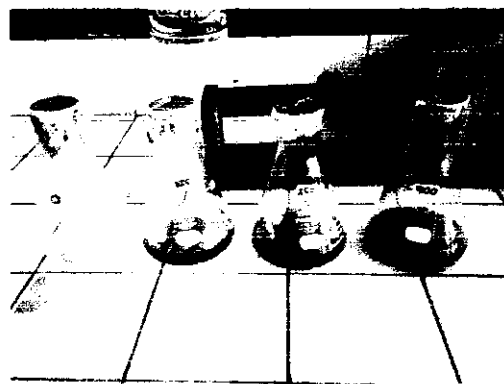
Hasil pemeriksaan Gram



Perlengkapan uji identifikasi



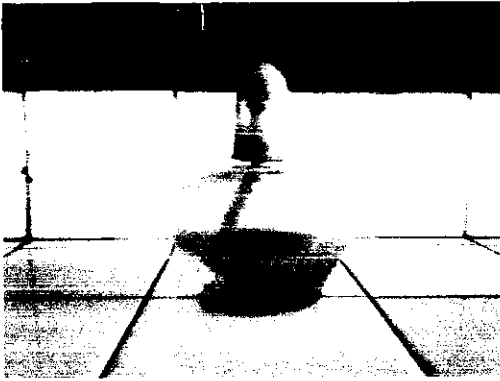
Kertas cakram steril



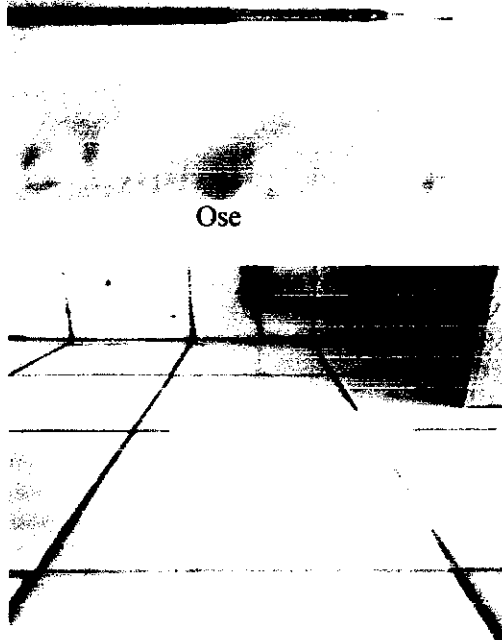
Sambiloto yang telah dilarutkan



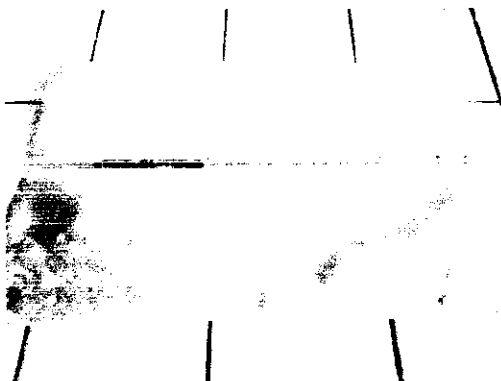
Uji koagulase



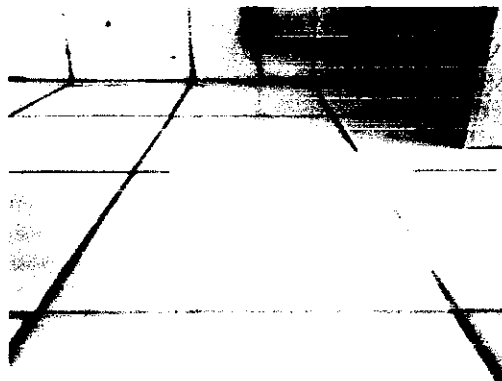
Bunsen



Ose



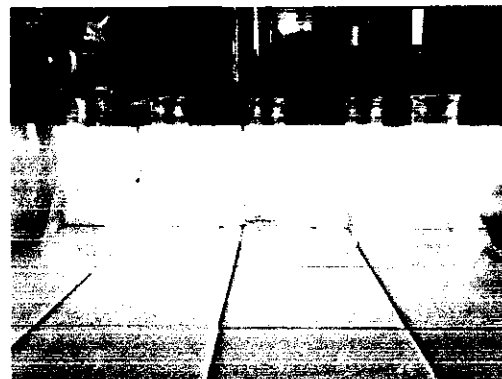
Pipet



Cawan petri



Gelas ukur



elenmeyer