

INHIBITION OF *Pluchea indica* L. LEAVES EXTRACT WITH ETHANOL SOLVENT TO GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND *Esherichia coli* THAT CAUSED MASTITIS IN DAIRY CATTLE

Intan Ayu Permadani¹⁾, Puguh Surjowardojo²⁾ and Sarwiyono²⁾

¹⁾Student of Animal Husbandry Faculty, Brawijaya University

²⁾Lecturer of Animal Husbandry Faculty, Brawijaya University

Jl. Veteran Malang 65145 Indonesia

(Email: intanaay@gmail.com)

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the effect *Pluchea indica* L. leaves ethanol extract as antibacterial against *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli* that caused subclinical mastitis disease in dairy cattle. The materials used in this research were *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Pluchea indica* L. leaves and iodips. The method used in this experiment with 4 treatment and 6 replication. The treatment used in this research were 40% (P₁), 50% (P₂) and 60% (P₃) for *Pluchea indica* L. leaves ethanol extract and iodips 10% (P₀) as a control. The result showed that *Pluchea indica* L. leaves ethanol extract give highly significant effect (P<0.01) on inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli* bacteria, so the results were continued by BNT test analysis, because there were differences among variables. *Pluchea indica* L. leaf ethanol extract concentration of 50% and 60% were used in this study have been able to inhibit to growth of *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*, but concentration of 40% were not able to keep up the strength inhibition of iodips. Based on the results of inhibition *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*, it suggest to use cosentration 50% of *Pluchea indica* L. leaves ethanol extract as a teat dipping in dairy cattle.

Keywords: antibacterial, bacteria, subclinical mastitis.

DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) MENGGUNAKAN PELARUT ETANOL TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Esherichia coli* PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI PERAH

Intan Ayu Permadani¹⁾, Puguh Surjowardojo²⁾ and Sarwiyono²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

Jl. Veteran Malang 65145 Indonesia

(Email: intanaay@gmail.com)

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan pelarut etanol sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah. Bahan yang digunakan dala penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, daun beluntas dan iodips. Metode yang digunakan berupa 4 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kosentrasi 40% (P₁), 50% (P₂), dan

60% (P₃) untuk ekstrak daun beluntas, dan larutan iodips 10% (P₀) yang digunakan sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol memberikan hasil beda nyata yang signifikan (P<0,01) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*, sehingga hasilnya dianalisis menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil), karena terdapat perbedaan antara variabel. Ekstrak daun beluntas konsentrasi 50% dan 60% yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*, namun konsentrasi 40% keampuannya masih setara dengan larutan iodips dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*. Berdasarkan hasil uji daya hambat maka disarankan untuk menggunakan ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.*) menggunakan pelarut etanol secara efisien adalah konsentrasi 50% sebagai bahan *teat dipping* pada sapi perah.

Kata kunci: antibakteri, bakteri, mastitis subklinis.

PENDAHULUAN

Sapi perah merupakan komoditi ternak yang dipelihara untuk menghasilkan susu dengan produksi yang lebih banyak yaitu sekitar 5-8 liter/ekor/hari jika dibandingkan komoditi ternak lain seperti kambing Peranakan Etawah yang produksi susunya hanya 2-3 liter/ekor/hari. Susu yang sering dikonsumsi masyarakat Indonesia adalah susu sapi, karena mudah diperoleh serta memiliki komposisi yang lengkap. Hal tersebut sangat dipengaruhi oleh manajemen pemeliharaan yang baik, apabila manajemen pemeliharaan kurang terlaksana dengan baik maka menyebabkan sapi mudah terkena penyakit. Salah satu penyakit yang mudah menyerang pada ternak sapi perah di Indonesia adalah mastitis.

Mastitis merupakan radang ambing yang disebabkan oleh mikroba kelompok bakteri patogen. Mastitis memiliki dampak yang merugikan bagi peternak akibat dari mahalnya pengobatan untuk perawatan, menurunnya produksi susu, bahkan susu tidak dapat dikonsumsi. Rahayu (2009) menambahkan bahwa sapi perah yang terkena mastitis menyebabkan penurunan produksi susu hingga 15%.

Poeloengan, Komala, Noor, Andriani dan Rianti (2006) menambahkan bahwa mastitis dibedakan menjadi dua tipe, yaitu kejadian secara klinis dan sub klinis. Mastitis klinis merupakan kondisi abnormal ambing yang dapat dideteksi secara langsung, sedangkan mastitis subklinis merupakan perubahan yang nyata dan terjadi secara tidak nampak pada ambing. Mastitis yang sering menyerang pada ternak sapi perah di Indonesia adalah mastitis subklinis yaitu sebesar 85%, sedangkan 15% disebabkan oleh mastitis klinis yang terdeteksi.

Kejadian mastitis subklinis disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* sangat tinggi yaitu 20,85%. Penyebab lainnya adalah bakteri *Esherichia coli* (8,24%), *Streptococcus uberis* (10%), *Streptococcus dysgalactiae* (5,47%), *Streptococcus agalactiae* (7,8%), *Candida* (9,93%). Berdasarkan hasil kajian tersebut dapat diketahui bahwa bakteri mastitis subklinis yang sering dijumpai adalah *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*. Bakteri tersebut terbawa oleh air bekas memandikan sapi dan berkumpul di ujung puting. Bakteri tersebut perlu dicegah untuk

meminimalisir kejadian mastitis (Dian, Lusia, Franky, Rosana dan Riyan, 2010).

Pencegahan mastitis selama ini dilakukan dengan pemberian iodips, dan antiseptik ini sulit didapatkan oleh peternak. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain untuk mencegah mastitis yaitu menggunakan antiseptik herbal yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Beluntas (*Pluchea indica L.*) merupakan tanaman herba yang biasanya digunakan obat tradisional. Koirewoa, Fatimawali dan Wiyono (2011) menambahkan bahwa tumbuhan ini memiliki senyawa aktif diantaranya flavonoid, tanin serta minyak atsiri. Widyawati, Wijaya, Harjosworo dan Satujhi (2010) menjelaskan bahwa flavonoid yang terdapat dalam daun beluntas memiliki antibakteri. Lisholifah (2014) dalam penelitiannya diketahui bahwa *teat dipping* menggunakan sari daun beluntas mampu mengurangi tingkat kejadian mastitis dan menurunkan aktivitas bakteri dalam susu walaupun masih di bawah kemampuan iodips. Lathifah (2008) menambahkan untuk senyawa flavonoid dapat diekstraksi dengan pelarut seperti etanol.

Berdasarkan uraian di atas maka diharapkan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol dapat menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eherichia coli* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 1 Desember sampai 31 Desember 2014 di Laboratorium Bakteriologi Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas

Pertanian Universitas Brawijaya dengan penanaman, pembiakan serta pengujian daya hambat bakteri. Proses ekstraksi daun beluntas dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang.

Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah bakteri *stock* jadi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Daun beluntas (*Pluchea indica L.*) diperoleh dari sekitar pemukiman warga Joyo Harjo Malang yang kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 40%, 50% dan 60%, sedangkan untuk pembanding (P_0) digunakan iodips yang biasanya digunakan dalam mencegah mastitis yang diperoleh dari Koperasi Agro Niaga (KAN) Jabung Malang.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, etanol 96% p.a, ekstrak daun beluntas, media NA (*Nutrient Agar*). Alat yang digunakan dalam ekstrak daun beluntas adalah timbangan analitik, erlenmeyer 1 liter, gelas ukur, corong *bunsher*, gelas media, *rotary evaporator*, kertas saring dan pengaduk. Alat yang digunakan untuk uji daya hambat bakteri adalah cawan petri, tabung reaksi, lampu spiritus atau bunsen, *autoklaf*, *inkubator*, labu *erlenmeyer* 250 ml, *cork borer*, gelas ukur, mikro pipet, pinset, jangka sorong, pengaduk, *L glass*, *aluminium foil*, kertas label, plastik *wrap* dan tissue.

Lokasi Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah percobaan laboratorium menggunakan metode

Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola *nested* dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% p.a, sedangkan uji daya hambat dilakukan menggunakan metode sumuran. Berikut adalah rumus pengenceran menurut Achmad dan Suryana (2009).

$$\text{Konsentrasi EDB} = \frac{e}{e+a} \times 100\%$$

Keterangan :

EDB : Ekstrak Daun Beluntas.

e : volume ekstrak daun beluntas (EDB) yang diambil dari EDB hasil ekstraksi (ml).

a : volume etanol yang ditambahkan (ml).

e + a : volume total antara ekstrak daun beluntas ditambahkan etanol dengan total 10 ml.

Proses pengenceran dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

V1 = Volume awal

N1 = Nilai konsentrasi awal

V2 = Volume akhir

N2 = Nilai konsentrasi akhir

Masing-masing perlakuan dalam penelitian ini adalah:

- P₀ (iodips 10%)
- P₁ 40% (ekstrak daun beluntas 4ml + etanol 96% 6 ml)
- P₂ 50% (ekstrak daun beluntas 5 ml + etanol 96% 5 ml)
- P₃ 60% (ekstrak daun beluntas 6 ml + etanol 96% 4ml)

Tahapan Penelitian

Prosedur Pembuatan Simplisa Daun Beluntas

Daun beluntas segar yang telah diambil sebanyak 1 kg dipotong-potong kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 60°C, setelah itu diangin-anginkan

selama 30 menit. Daun beluntas yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan *grinder* dengan lubang 0,75 mm sampai menjadi serbuk. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian (Rahmawati, 2010). Bagian daun yang digunakan adalah daun yang masih muda sekitar 3-5 dari pucuk daun.

Proses Ekstraksi Daun Beluntas

Ekstraksi daun beluntas dilakukan menggunakan metode maserasi, dengan menggunakan pelarut etanol 96% p.a. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada suhu ruangan. Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode *soxhlet* karena dikhawatirkan ada golongan senyawa flavonid yang tidak tahan panas.

Proses ekstraksi menurut Koirewoa dkk., (2011) dilakukan sebagai berikut:

1. Serbuk daun kering 120 g ditimbang dan diambil 100 g.
2. Serbuk yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 1 liter.
3. Maserasi dilakukan dengan menambahkan pelarut etanol dengan perbandingan 1:3 atau sampai terendam seluruhnya, kemudian dihomogenkan menggunakan *shaker incubator* selama 4 jam dan didiamkan selama 24 jam.
4. Larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring *whatman*.
5. Filtrat ekstrak daun beluntas dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian ditimbang ekstrak daun beluntas yang diperoleh digunakan sebagai uji antibakteri.

Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Prosedur pembuatan media NA menurut Cappucino *and* Sherman (2005) adalah sebagai berikut:

1. *Nutrient Agar* dilarutkan dengan komposisi 2,8 g/100 ml, kemudian dilarutkan dengan aquades ke dalam erlenmeyer sebanyak 100 ml.
2. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.
3. Media dituangkan ke cawan petri masing-masing 10 ml dan dibiarkan hingga dingin dan padat.

Pembiakan Bakteri

Prosedur pembiakan bakteri menurut Lisholifah (2014) adalah sebagai berikut.

1. Bakteri *stock* jadi *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* diinokulasikan ke media padat menggunakan mikropipet sebanyak 100µl.
2. Diratakan menggunakan L *glass* steril (metode sebar).
3. Setelah itu didiamkan selama 24 jam dengan suhu ruang.

Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan menggunakan metode sumuran sebagai berikut (Darsono dan Artemisia, 2003):

1. Bakteri aktif sebanyak 100 µl diambil dengan menggunakan mikropipet, dimasukkan ke dalam cawan petri.
2. Suspensi bakteri dihomogenkan dan diratakan dengan

menggunakan spreader hingga memadat.

3. Media yang telah bercampur dengan bakteri dilubangi menggunakan *cork borer* dengan diameter lubang 5 mm.
4. Iodips dan ekstrak daun beluntas (P₁, P₂, P₃) dimasukkan ke lubang sumuran menggunakan *micro* pipet sebanyak 50 µl.
5. Cawan petri dibungkus menggunakan plastik *wrap* lalu didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam.
6. Zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran diamati dan diukur menggunakan jangka sorong sesuai dengan kategori zona hambat.

Pengukuran Diameter Zona Hambat

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah besarnya diameter zona hambat yang terbentuk akibat pengaruh ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol. Zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran menunjukkan terdapat aktivitas senyawa antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* (Nisaa' dan Darjono, 2011). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun beluntas maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk untuk mengamati bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* yang mati. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong, sehingga dapat disebut dengan zona hambat. Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012) menyebutkan kategori zona hambat dapat diketahui pada Tabel 1.

Tabel 1. Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21	Sangat kuat

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi:

a. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 40%, 50% dan 60%.

b. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat berupa zona bening pada media *Nutrient Agar* yang diberikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* serta membandingkan besarnya diameter yang terbentuk dari beberapa konsentrasi.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), dan apabila terdapat perbedaan yang sangat nyata pada tiap perlakuannya maka dapat dilanjutkan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui hipotesis yaitu pengaruh penggunaan ekstrak daun beluntas terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*.

Model umum percobaan dalam rancangan acak lengkap adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{k(ij)}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = pengamatan dari faktor A level ke i, faktor B level ke j (tersarang pada faktor A) dan pada ulangan ke k.

μ = nilai tengah

α_i = pengaruh faktor A pada level ke i

β_j = pengaruh faktor B pada level ke j tersarang pada faktor A

τ_i = perlakuan aditif dari perlakuan ke-i ($\mu_1 - \mu$)

ε_{ij} = galat percobaan / pengaruh acak dari perlakuan ke-i level ke j ulangan ke k

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji daya hambat dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya menggunakan metode sumuran. Nisaa' dan Darjono (2011) menambahkan metode sumuran yaitu membuat lubang pada media untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun beluntas. Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2.

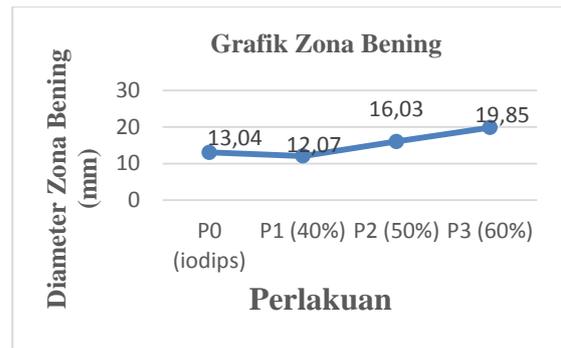
Tabel 2. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm) <i>Staphylococcus aureus</i>
P ₀ iodips	13,04 ± 0,39 ^b
P ₁ (40%)	12,07 ± 0,47 ^a
P ₂ (50%)	16,03 ± 0,58 ^c
P ₃ (60%)	19,85 ± 0,40 ^d

Keterangan: Superskrip yang berbeda (a-d) pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata (P<0,01).

Hasil zona bening yang ada di sekitar lubang sumuran merupakan adanya aktivitas penghambat bakteri oleh senyawa aktif yang terdapat dalam daun beluntas. Nisaa' dan Darsono (2011) mengungkapkan bahwa zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran menunjukkan terdapat aktivitas senyawa antibakteri *Staphylococcus aureus*. Rata-rata diameter zona hambat oleh ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi 40% hingga 60% yang berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga hasil analisis dilanjutkan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dan diperoleh pada P₁ (40%) menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan P₀ (iodips) sebagai pembanding, dilanjutkan pada P₂ (50%) memiliki hasil yang berbeda sangat nyata jika dibandingkan P₁ (40%), dan pada P₃ (60%) juga memiliki hasil yang berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan P₂ (50%).

Susanto dkk. (2012) mengategorikan diameter zona hambat sesuai dengan kekuatan daya hambatnya yang mencapai ≥ 21 mm. Kategori lemah adalah diameter zona hambat ≤ 5 mm. Kategori sedang apabila memiliki diameter zona hambat sekitar antara 6-10 mm, dan diameter zona hambat yang kuat memiliki diameter sekitar 11-20 mm. Hasil zona hambat diketahui bahwa pada P₀ (iodips) dikategorikan kuat dengan diameter sebesar 10,98 mm. Hasil tersebut diikuti oleh P₁ (40%), P₂ (50%) dan P₃ (60%) yang juga dikategorikan kuat dengan zona hambat sebesar 12,07 mm; 16,03 mm; dan 19,85 mm. Hasil diameter zona hambat ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Diameter zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *Esherichia coli*

Uji daya hambat bakteri *Esherichia coli* menggunakan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 40% (P₁), 50% (P₂) dan 60% (P₃) serta iodips 10% yang digunakan sebagai pembanding. Pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol terhadap bakteri *Esherichia coli*.

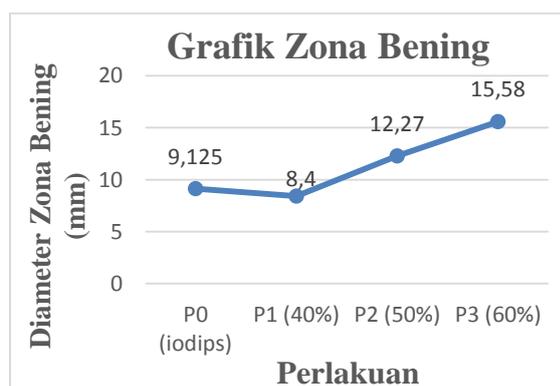
Perlakuan	Diameter zona hambat (mm) <i>Esherichia coli</i>
P ₀ iodips	9,12 ± 0,49 ^a
P ₁ (40%)	8,40 ± 0,48 ^a
P ₂ (50%)	12,27 ± 0,73 ^b
P ₃ (60%)	15,58 ± 0,74 ^c

Keterangan: Superskrip yang berbeda (a-c) pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Rata-rata diameter zona hambat oleh ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi 40% (P₁), 50% (P₂), dan 60% (P₃) yang berpengaruh

sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap pertumbuhan bakteri *Esherichia coli*, sehingga hasil analisis dilanjutkan menggunakan uji jarak BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil yang diperoleh pada P_1 (40%) tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan P_0 (iodips), sedangkan pada P_2 (50%) memiliki hasil berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan P_0 (iodips) dan P_1 (40%), dan pada P_3 (60%) memiliki hasil perbedaan yang sangat nyata jika dengan P_2 (50%).

Hasil zona hambat telah diketahui pada larutan iodips 10% dan konsentrasi 40% (P_1) dikategorikan sedang, dimana masing-masing diameternya sebesar 9,12 mm; dan 8,40 mm. Ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi 50% dan 60% dikategorikan kuat, dimana masing-masing diameternya sebesar 12,27 mm; dan 15,58 mm. Grafik zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol (*Pluchea indica L.*) terhadap bakteri *Esherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 8.



Tabel 4. Rata-rata pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*.

Perlakuan	Diameter zona hambat bakteri (mm)
<i>Esherichia coli</i> P_1 (40%)	$8,40 \pm 0,48^a$
<i>Esherichia coli</i> P_0 (iodips)	$9,12 \pm 0,49^a$
<i>Staphylococcus aureus</i> P_1 (40%)	$12,07 \pm 0,47^b$

Gambar 8. Diameter zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol terhadap pertumbuhan bakteri *Esherichia coli*.

Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*

Uji daya hambat dengan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol dilakukan dengan beberapa perlakuan. Perlakuan yang diberikan adalah larutan iodips (P_0), konsentrasi 40% (P_1), konsentrasi 50% (P_2) dan konsentrasi 60% (P_3) kemudian ditetaskan pada lubang sumuran yang telah dibentuk di Media NA. Berdasarkan analisis ragam RAL pola nested, menunjukkan rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi 40% hingga 60% memiliki hasil perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*, sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

<i>Esherichia coli</i> P ₂ (50%)	12,27 ± 0,73 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i> P ₀ (iodips)	13,04 ± 0,39 ^c
<i>Esherichia coli</i> P ₃ (60%)	15,58 ± 0,74 ^d
<i>Staphylococcus aureus</i> P ₂ (50%)	16,03 ± 0,58 ^d
<i>Staphylococcus aureus</i> P ₃ (60%)	19,85 ± 0,40 ^e

Keterangan: Superskrip yang berbeda (a-e) pada kolom di atas menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata (P<0,01).

Hasil dari Tabel 4. diketahui bahwa uji daya hambat pada bakteri *Esherichia coli* P₁ (40%) memiliki hasil yang tidak berbeda nyata dengan bakteri *Esherichia coli* P₀ (iodips) yang digunakan sebagai pembanding. Bakteri *Staphylococcus aureus* P₁ (40%) memiliki hasil yang berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan bakteri *Esherichia coli* P₀ (iodips) yang digunakan sebagai pembanding, sedangkan pada bakteri *Esherichia coli* P₂ (50%) memiliki hasil yang tidak berbeda nyata dengan bakteri *Staphylococcus aureus* P₁ (40%). Bakteri *Staphylococcus aureus* P₀ (iodips) yang digunakan sebagai pembanding memiliki hasil yang berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan *Esherichia coli* P₂ (50%), kemudian dilanjutkan dengan bakteri *Esherichia coli* P₃ (60%) juga memiliki hasil yang berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* P₀ (iodips) sebagai pembanding. Hasil bakteri *Staphylococcus aureus* P₂ (50%) memiliki hasil yang tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan bakteri *Esherichia coli* P₃ (60%), dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* P₃ (60%) memiliki hasil yang berbeda sangat nyata.

Hasil uji daya hambat tersebut diketahui bahwa ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol konsentrasi 50% (P₂) dan 60% (P₃) sudah mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* dengan diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi 50% (P₂) adalah 16,03 mm dan 60% (P₃) sebesar 19,85 mm, begitu pula pada bakteri *Esherichia coli* konsentrasi 50% (P₂) sebesar

12,27 mm dan konsentrasi 60% (P₃) sebesar 15,58 mm. Kosentrasi 40% (P₁) kemampuannya masih setara dengan iodips dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* dengan zona hambat yang didapatkan secara berturut-turut sebesar 12,07 mm dan 8,40 mm, sedangkan zona hambat yang dimiliki iodips dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* secara berturut-turut adalah 13,04 mm dan 9,12 mm.

Pengaruh Ekstrak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*

Hasil dari penelitian ini diketahui bahwa zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan pada bakteri *Esherichia coli*. Hal tersebut disebabkan karena perbedaan sensitifitas pada bakteri. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan golongan bakteri golongan gram positif yang dinding selnya lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri *Esherichia coli* yang dinding selnya lebih kompleks, bakteri ini termasuk dalam golongan bakteri gram negatif. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Eni dkk. (2009) bahwa bakteri *Escherichia coli* mempunyai ketahanan yang baik terhadap senyawa antibakteri sehingga respon hambat bakteri *Escherichia coli* lemah. Amalia dkk. (2014) menambahkan bahwa bakteri yang termasuk dalam golongan gram positif memiliki kepekaan terhadap antibakteri lebih baik dibandingkan dengan golongan bakteri gram negatif, hal tersebut disebabkan perbedaan struktur dinding sel. Struktur dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih kompleks, memiliki tiga lapis yaitu lapisan luar yang

berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan. Sedangkan struktur dinding sel mikroba gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Hasil penelitian diketahui bahwa kandungan pada ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol pada P₂ (50%) dan P₃ (60%) yaitu lebih tinggi daya hambatnya dibandingkan dengan larutan iodips. Komposisi iodips yang tertera dalam label adalah *iodophores*, *emollient*, *white mineral oil*, *orthophosphoric acid*, *acid lactid* dan *detergen*. Zona daya hambat yang terbentuk disebabkan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam daun beluntas. Koirewoa dkk. (2011) menambahkan bahwa tumbuhan ini memiliki senyawa kimia diantaranya flavonoid, tannin serta minyak atsiri yang dapat menghambat aktivitas bakteri. Sesuai pernyataan Pelczar dan Chan (2008) daun beluntas diketahui dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* yang merupakan bakteri penyebab infeksi pada ternak sapi perah yang terkena mastitis.

Mekanisme ekstrak daun beluntas menghambat bakteri awalnya dengan cara merusak dinding sel. Diketahui dinding sel bakteri merupakan lapisan yang tebal sehingga pada saat terdapat goncangan dari luar maka dinding sel tetap kuat melindungi yang terdapat di dalamnya. Sabir (2005) menambahkan bahwa senyawa flavonoid ini sendiri memiliki gugus hidroksil yang menyebabkan perubahan komponen organik dan transportasi nutrisi yang mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap lapisan

dinding bakteri. Setelah dinding sel bakteri pecah dilanjutkan senyawa minyak atsiri yang menembus lapisan dalam bakteri. Razak (2013) melanjutkan bahwa mekanisme kerja fenol dari minyak atsiri dengan cara mendenaturasi protein dan merusak sitoplasma sel bakteri hingga terjadi lisis. Setelah lisis maka selanjutnya senyawa tanin merusak dinding sel. Nurhalimah dkk. (2014) menambahkan bahwa senyawa ini mampu merusak dinding sel, menonaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga mengalami kerusakan bahkan kematian pada dinding sel yang diakibatkan karena penurunan permeabilitas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, maka dapat disimpulkan:

1. Ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi (50%) dan (60%) memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli* dibandingkan konsentrasi (40%) yang masih setara dengan iodips.
2. Ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol lebih tinggi daya hambatnya pada bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan menghambat bakteri *Esherichia coli*.

Saran

Berdasarkan hasil uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan

Esherichia coli maka disarankan untuk menggunakan ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica L.*) menggunakan pelarut etanol secara efisien adalah kosentrasi 50% sebagai bahan *teat dipping* pada sapi perah.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad dan I. Suryana. 2009. Pengujian aktivitas ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap *Rhizoctonia* sp. secara *in vitro*. Bul. Littro 20 (1): 92-98.
- Amalia, S., S. Wahdaningsih dan E. K. Untari. 2014. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus Britton and Rose*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Trad. Med Journal 19 (2): 89-94.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 2005. Microbiology: a laboratory manual. 7th ed. Pearson Education Inc. USA.
- Darsono F.L dan S. D. Artemisia. 2003. Aktivitas antimikroba ekstrak daun jambu biji dari beberapa kultivar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan "Hole-Plate Diffusion Method" Berk. Penel. Jurnal Hayati. 9 (1): 49-51.
- Dian A.S., W. Lusiana, Franky., S. D. Rosana dan Riyan P. 2010. Karakterisasi kemampuan adesi bakteri penyebab mastitis subklinis pada sapi perah serta peluang pembuatan antiadesi untuk pencegahannya. Jurnal Saintifika 2 (2): 48-54.
- Eni P., W.N.H Setyo dan R. Rusdin. 2009. Respon hambatan bakteri gram positif dan negatif pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diawetkan dengan ekstrak jahe (*Zingerber officinale*). Jurnal Kesehatan 2 (1): 61-70.
- Koirewoa Y. A., Fatimawali dan I. W. Weny. 2011. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica L.*). Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT. Manado. <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=15364&val=1015>. Diakses tanggal 2 November 2014.
- Lathifah, Q. 2008. Uji efektifitas ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan variasi pelarut. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Skripsi. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- Lisholifah. 2014. Pengaruh *teat dipping* sari daun beluntas (*Pluchea indica Less*) terhadap kualitas susu berdasarkan *California Mastitis Test* dan uji reduktase. Fakultas Peternakan. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nisaa', U dan A. Darjono. 2011. Analisis minyak atsiri serai (*Cymbopogon citratus*) sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar gigi dengan menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA. Semarang. <http://www.unissula.ac.id>. Diakses tanggal 30 November 2014.

- Nurhalimah, H., N. Wijayanti dan T. D. Widyaningsih. 2014. Efek anti diare ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica L.*) terhadap mencit jantan yang diinduksi bakteri *Salmonella Thypimurium*. Jurnal Pangan dan Agroindustri 3 (3): 1083-1094.
- Poeloengan, M., I. Komala., S. M. Noor., Andriani dan S. R. P. Rianti. 2006. Aktivitas air perasan, minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri yang diisolasi dari sapi mastitis subklinis. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner; 250-255.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2008. Dasar-dasar mikrobiologi Jilid ke-1. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Rahmawati, I., R. Marini dan Y. Rinanto. 2010. Uji aktifitas antibakteri fraksi aktif ekstrak etanolik daun beluntas (*Pluchea indica L.*) dengan metode maserasi dan soxhletasi terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 secara dilusi. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. <http://biomedika.setiabudi.ac.id>. Diakses tanggal 5 Desember 2014.
- Rahayu, I. D. 2009. Isolasi dan identifikasi saponin dari aloe barbadensis miller sebagai antibiotik alami: penanggulangan mastitis pada sapi perah. Gamma 5 (1): 28-33.
- Razak, A., A. Djamal dan G. Revilla. 2013. Uji daya hambat air perasan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s.*) terhadap pertumbuhan bakteri staphylococcus aureus secara in vitro. Jurnal kesehatan Andalas 2 (1): 5-8.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona sp* terhadap bakteri *Streptococcus muntans (in vitro)*. Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.) 38 (3): 135-141.
- Susanto, D. Sudrajat dan R. Ruga. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. Mulawarmnan Scientifie 11(2): 181-190.
- Widyawati, P. S., C. H. Wijaya., P. S. Hardjosworo dan D. Sajuthi. 2010. Evaluasi aktivitas antioksidatif ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica*) Berdasarkan Perbedaan Ruas Daun. Fakultas Teknologi Pertanian. Unika Widya Mandala. Surabaya.