

AKTIVITAS ANTIBAKTERI SAPONIN HASIL ISOLASI *ALOE BARBADENSIS MILLER* TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI PERAH

Imbang Dwi Rahayu

Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang

Alamat Korespondensi : Perum Embong Anyar I Blok D 10

Telp: 0341 - 465272, Hp: 081333055065, Email: imb_mlg@yahoo.co.id

ABSTRACT

The mastitis in dairy cattle is caused by *Staphylococcus aureus*. The bacteria are multiresistant to antibiotic. Isolated of *Aloe barbadensis Miller*, that has antibacterial, saponin is needed to replace synthetic antibiotic. The research has conducted to tested antibacterial activity of saponin for the growth of *Staphylococcus aureus*.

Saponin was extracted from gel of *Aloe vera* leaf by n-hexane and methanol. Isolated of saponin used to the Coulom Chromatography and Thin Layer Chromatography. It needs H₂SO₄ for identifying of saponin. The saponin's powder was produced by drying process, amyllum or dexstrin as kinds of filler. The ratio of saponin or amyllum or dexstrin was 80% : 20%. Six levels of saponin were used in experiment i.e : 1,5%; 3,0%; 6,2%; 12,5%; 25% and 50%. The parameters of the research were Minimum Inhibition Concentration (MIC) and cakram disk. The result of experiment was analysed with descriptively, penicillin was used as positive control.

The saponin's powder give antibacterial activity that higher than saponin's concentrated. There were similarity in antibacterial activity between the saponin's powder was added amyllum with penicillin.

Key word : Saponin, antibacterial activity, *Aloe barbadensis Miller*, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Mastitis pada sapi perah terutama disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus agalactiae* berdampak penurunan produksi susu dan kualitas susu, dan resistensi bakteri penyebab. Sebagian besar bakteri penyebab telah resisten terhadap berbagai antibiotik yang sering digunakan untuk mengatasinya (Rahayu,2007). Diperlukan antibiotik alami, ekstrak tanaman, seperti *Aloe barbadensis Miller*, yang mengandung saponin, sebagai pengganti antibiotik sintetis yang aman, tanpa menimbulkan resistensi bakteri dan residu antibiotik dalam air susu. Penelitian ini secara khusus dimaksudkan untuk memperoleh produk saponin sebagai antibiotik alami yang diekstrak dari *Aloe barbadensis Miller*, sebagai upaya pengendalian penyakit mastitis pada sapi perah secara aman, tanpa menimbulkan resistensi bakteri

METODELOGI PENELITIAN

Isolasi saponin dari *Aloe barbadensis Miller* dilakukan menurut Rahayu (2007). Gel daun lidah buaya diekstraksi dengan n-heksana dan metanol, diisolasi dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis (KLT). Identifikasi menggunakan H₂SO₄, dilanjutkan uji busa dengan pengocokan dalam air, sehingga dihasilkan **saponin pekat**. **Saponin serbuk** diperoleh dengan pengeringan saponin pekat dalam *freeze dryer*, ditambah bahan pengisi berupa amyllum atau dexstrin, dengan perbandingan antara saponin : bahan pengisi, 80% : 20%. Pengujian dengan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan cakram dilakukan terhadap 7 level saponin, yaitu 1,5%; 3,0%; 6,2%; 12,5%; 25% dan 50%. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif, dengan kontrol positif menggunakan sediaan derivat penisilin.

Pada uji **MIC**, dibuat larutan stok saponin 10% (100 ml antibiotik dilarutkan dalam 900 ml aquadest steril), dilanjutkan pembuatan seri konsentrasi saponin, seperti Tabel 1.

Tabel 1. Seri Konsentrasi Saponin Pada Uji MIC

Konsentrasi Perlakuan	Antibiotik	Media Nutrien Broth Yang Diinokulasi Bakteri Larutan Stock 10%
0.7	-	9.3
0.8	-	9.2
0.9	-	9.1
1.0	-	9.0
1.1	-	8.9
1.2	-	8.8
1.3	-	8.7
-	-	-
2.5	2.5	7.5
2.6	2.6	7.4

Sumber : Rahayu (2007)

Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 300C, selanjutnya diamati pertumbuhan bakteri di dalamnya. Apabila medium keruh, berarti konsentrasi yang digunakan tidak efektif. Tetapi apabila medium tetap jernih, berarti bakteri tidak tumbuh, hal ini berarti konsentrasi tersebut bisa digunakan efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Menggoskan medium yang jernih pada media TSA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30oC. Apabila pada media TSA terlihat adanya pertumbuhan bakteri, berarti konsentrasi saponin yang digunakan bersifat bakteriosatik. Tetapi apabila pada

media TSA tidak terdapat pertumbuhan bakteri, ini berarti konsentrasi saponin yang digunakan bersifat bakterisidal.

Konsentrasi saponin terkecil yang menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroorganisme dan disebut konsentrasi penghambat minimum (MIC). Pada **uji Cakram**, masing-masing biakan murni ditanam pada 4 ml media cair (Nutrien Both) sebanyak 5 inokulum dan diinkubasi pada suhu 30oC selama 2 – 5 jam sehingga akan terbentuk kekeruhan. Membuat seri konsentrasi saponin berdasarkan\ konsentrasi perlakuan, seperti Tabel12

Tabel 2. Seri Konsentrasi Saponin pada Uji Cakram

Konsentrasi yang Diinginkan (%)	Antibiotik (ml)	Aquadest steril (ml)
2,5	0,25	9,75
4,5	0,45	9,55
6,5	0,65	9,35
8,5	0,85	9,15
10,5	1,05	8,95

Sumber : Rahayu (2007).

Masing-masing lempeng agar, MHA (Muller Hinton Agar) dibuat setebal 5 mm. Sebelum digunakan diperiksa sterilitasnya serta permukaannya harus kering. Penamaan bakteri pada lempeng agar dilakukan dengan cara mencelupkan pengusap kapas steril ke dalam biakan cair, NB (Nutrient Broth) yang mengandung bakteri sambil ditekan ke dinding tabung untuk memeras kelebihan cairan, kemudian diusapkan pelan-pelan pada seluruh permukaan lempeng agar MHA secara merata dan dibiarkan kering selama 15 – 30 menit.

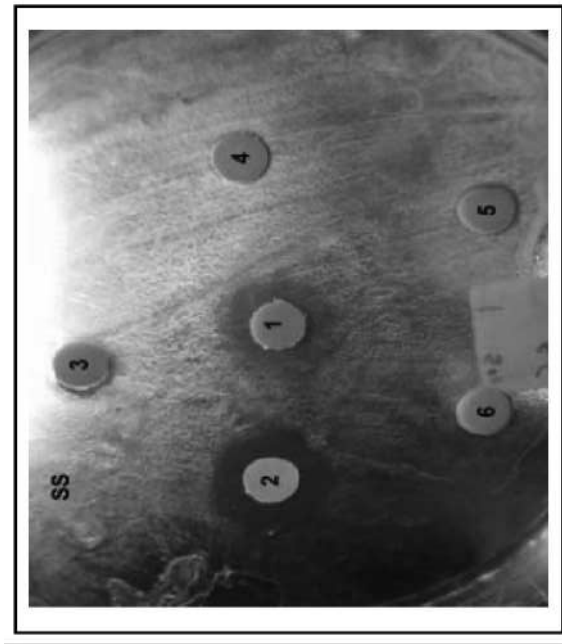
Cakram disk dicelupkan pada saponin yang telah ditentukan konsentrasinya. Setelah lempeng agar MHA yang telah ditanami bakteri mengering, barulah cakram disk yang telah mengandung saponin tersebut diletakkan secara aseptis pada permukaan lempeng agar. Cakram disk ditekan-tekan supaya saponin meresap ke dalam agar dengan baik.

Pembacaan hasil dilakukan setelah diinkubasi selama 18 – 24 jam, dengan cara mengukur daerah hambatan yang terbentuk di sekitar cakram disk.

penisilin terhadap *S. aureus*, yaitu pada level 25 mg/ml, saponin dan penisilin mulai menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Tidak efektifnya saponin menghambat bakteri Gram negatif diduga karena saponin tidak cukup mampu melakukan penetrasi ke dalam membran sel bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia coli* maupun sel fungi, seperti *C. Albicans*.

Apabila dibandingkan hasil uji MIC *Soetan et al.* (2006), maka saponin yang diisolasi dari *Aloe barbadensis Miller* pada penelitian ini, baik bentuk pekat maupun serbuk, memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. aureus* yang lebih besar. Pada saponin pekat, efek hambat bakteri mulai terjadi pada level 12,5 mg/ml, sedangkan pada saponin serbuk mulai terjadi pada level 1,5 mg/ml.

Berdasarkan uji cakram, daya hambat saponin serbuk ternyata lebih baik daripada saponin pekat. Perbandingan daya hambat dari kedua sediaan saponin sebagaimana ditampilkan pada Gambar 3 dan Gambar 4. Hal ini berkaitan dengan stabilitas struktur kimia saponin serbuk yang lebih tinggi pada suhu refrigerator daripada saponin pekat. Berdasarkan uji kestabilan

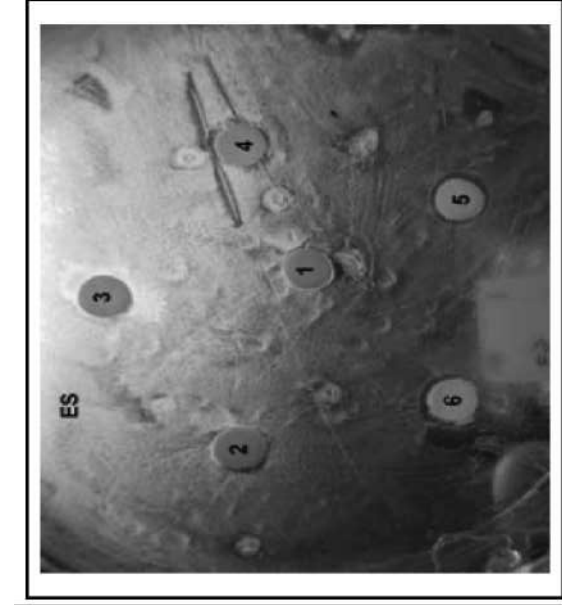


Gambar 3. Uji cakram saponin serbuk dengan bahan pengisi amilum terhadap pertumbuhan *S. aureus* yang diisolasi dari sapi perah penderita mastitis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Disimpulkan bahwa saponin serbuk memberikan daya hambat terhadap *S. aureus* yang jauh lebih besar daripada saponin pekat. **Pada uji kontrol positif,**

absorbansi, pH, dan warna, maka saponin serbuk memiliki kestabilan yang lebih baik daripada saponin pekat pada suhu refrigerator dan lama simpan yang sama, yaitu sampai 3 minggu. Kestabilan sifat tersebut disebabkan oleh persentase kadar air dan Aw yang terkandung pada saponin serbuk lebih rendah daripada saponin pekat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahayu (2008), bahwa kadar air dan Aw yang rendah diciptakan oleh adanya bahan pengisi berupa amilum, yang terdiri atas unit glukosa dan bersifat melindungi struktur saponin dengan cara mengikat air dari saponin, sehingga oksigen yang larut dapat dikurangi dan selanjutnya proses oksidasi saponin bisa dicegah. Amilum juga berperan sebagai lapisan film yang melindungi partikel saponin, ketika proses pengeringan dengan *freeze dryer* berlangsung Sebagai kontrol positif daya hambat saponin serbuk terhadap *S. aureus*, maka dilakukan pula pengujian daya hambat beberapa sediaan penisilin semisintetik terhadap bakteri tersebut. Daya hambat saponin serbuk dengan bahan pengisi amilum memberikan kemampuan penghambatan terhadap *S. aureus* yang hampir sama dengan sediaan penisilin semisintetik.



Gambar 4. Uji cakram saponin pekat terhadap pertumbuhan *S. aureus* yang diisolasi dari sapi perah penderita mastitis.

saponin serbuk dengan bahan pengisi amilum yang disimpan dalam suhu refrigerator memberikan daya hambat yang hampir sama dengan daya hambat sediaan penisilin semisintetik. Disarankan bahwa guna efektifitas kerja **saponin serbuk** sebagai antibiotik

alami untuk yang sensitif terhadap *S. aureus*, diperlukan bahan pengisi amilum dan penyimpanan pada suhu refrigerator.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Terjemahan. Buku Teks asli : Medical Microbiology. Penerbit Salemba Medika.
- Boyd, Robert, F. 1988. General Mycrobiology. Second Edition. Times Mirror/Mosby College Publishing.
- Rahayu, I.D. 2007. Tuntas Atasi Gangguan Kesehatan Ternak. Buku Ajar. Fakultas Peternakan Periklanan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahayu, I.D. 2007. Sensitifitas Staphylococcus aureus sebagai Bakteri Patogen Penyebab Mastitis terhadap Antiseptik Pencelup Puting Sapi Perah.
- Jurnal Ilmiah Ilmu Peternakan dan Periklanan. PROTEIN. Vol. 14. N0.1. Hal : 31-36. Pusat Publikasi dan Penelitian Fakultas Peternakan-Periklanan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahayu, I.D. 2008. Produksi Antibiotik Alami Hasil Isolasi Aloe Barbadensis Miller : Penanggulangan Mastitis pada Sapi Perah. Laporan Penelitian Hibah Bersaing.
- Soetan k. O., Oyekunie M.A., Aiyelaagbe O. O. and Fafunso M. A. , 2006. Evaluation of the Antibicrobial Activity of Saponins Extract of Sorghum bicolor Moench. African Journal of Biotechnology. Vol 5, pp. 2405-2407, 4 December 2006.
- Todar, Kenneth. 2000. Controlling Growth with Chemical Agents. University of Wisconsin-Madison.