

# AKTIVITAS ANTIBAKTERI SAPONIN HASIL ISOLASI ALOE BARBADIENSIS MILLER TERHADAP STAPHYLOCOCCUS AUREUS PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI PERAH

Imbang Dwi Rahayu

Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang  
Alamat Korrespondensi : 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* leafs by n-hexane and methanol. Isolated of saponin used to the Coulom Cromatography and Thin Layer Cromatography. It needs H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> for identifying of saponin. The saponin's powder was produced by drying process, amylyum or dexstrin as kinds of filler. The ratio of saponin and amylyum 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 amylyum 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 sintetik 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

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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dilanjutkan uji busa dengan pengocokan dalam air, sehingga dihasilkan **saponin pekat**. **Saponin serbusuk** diperoleh dengan pengeringan saponin pekat dalam *freeze dryer*, ditambah bahan pengisi berupa amilum atau dekstrin, 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 aquades steril), dilanjutkan pembuatan seri konsentrasi saponin, seperti Tabel 1.

## METODELOGI PENELITIAN

**Tabel 1. Seri Konsentrasi Saponin Pada Uji MIC**

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

Sumber : Rahayu (2007)

Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30oC, 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.

Menggoreskan 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 bakteriostatik. Tetapi apabila pada

Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30oC, selanjutnya diamati pertumbuhan bakteri di dalamnya. Apabila medium keruh, 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 Tabel 2

**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 konsentrasiannya. Setelah lempeng agar MHA yang telah ditanami bakteri mengering, barulah cakram disk yang telah mengandung saponin tersebut dilettakkan 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.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan uji MIC, diperoleh hasil bahwa saponin pekat masih memberikan kesempatan tumbuh terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 1,5 mg/ml sampai dengan 6,2 mg/ml. Pada konsentrasi 12,5 mg/ml, saponin pekat baru menunjukkan daya hambatnya (Gambar 1).

Jika dibandingkan dengan uji MIC saponin serbuk, maka saponin kental memiliki nilai MIC lebih rendah. Pada saponin serbuk, daya hambat terhadap

pertumbuhan *S. aureus* terlihat mulai konsentrasi terendah sampai dengan konsentrasi tertinggi, yaitu 1,5% sampai dengan 50% (Gambar 2). Hal ini berkaitan dengan sifat stabilitas saponin serbuk yang lebih bagus daripada saponin pekat, termasuk stabilitas absorbansi, pH, warna, persen kelarutan maupun kadar air. Stabilitas tersebut secara interaktif akan menekan aktivitas mikroorganisme pada saponin, sehingga saponin serbuk mampu mempertahankan struktur kimianya dalam waktu yang lebih lama.



Gambar 1. Hasil Uji MIC, saponin pekat menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi di atas 6,5%.

Pada uji lanjut, saponin serbuk munni, tanpa bahan pengisi, dalam media TSA, terlihat masih ada pertumbuhan bakteri *S. aureus*, sehingga saponin serbuk dalam penelitian ini memiliki efek bakteriostatik. Hasil yang sama juga diperoleh pada saponin serbuk yang dikombinasikan dengan bahan pengisi amilium maupun dekstrin. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Rahayu (2007), maka efektivitas saponin terhadap *S. aureus* lebih rendah daripada antisептик, berupa etanol 70%, kaporit 60 mg/L dan iodoform 10 mL, yang memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri tersebut. Menurut Boyd (1988), etanol mampu mendenaturasi protein dan melarutkan lemak yang terdapat pada dinding bakteri dan lemak pembungkus virus. Kaporit, berupa kalsium hipoklorit, memiliki aktivitas antimikroba dengan cara menginaktivkan protein yang mengandung ikatan-sulfur, sehingga menyebabkan perubahan konformasi protein dan merubah aktivitasnya. Todar (2000), menyatakan bahwa iodoform merupakan antisepтик kulit, memiliki

kemampuan denaturasi dan inaktivasi protein, sehingga mempengaruhi susunan kimia dinding sel *S. aureus*, yang berupa peptidoglikan, yang tergolong mukopeptida.

Brooks *et al.* (2005), menyatakan bahwa desinfektansia dan antisepтика memang berbeda dengan antibiotik, karena desinfektan dan antisepтика memiliki toksisitas selektif yang rendah, keduanya bersifat toksik tidak hanya pada sel mikroba patogen tetapi juga terhadap sel inang. Oleh karena itu, desinfektansia hanya digunakan untuk membunuh mikroorganisme pada lingkungan mati, sedangkan antisepтика mungkin hanya digunakan pada jaringan hidup terbatas pada permukaan kulit

Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Soetan *et al.* (2006), bahwa saponin yang diekstrak dari *Sorghum bicolor L. Moench*, efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, namun tidak efektif terhadap Gram negatif maupun fungi. Hasil uji MIC saponin sebanding dengan MIC



Gambar 2. Hasil uji MIC, saponin serbuk tidak memberikan kesempatan tumbuh *S. aureus*, pada konsentrasi 1,5%.

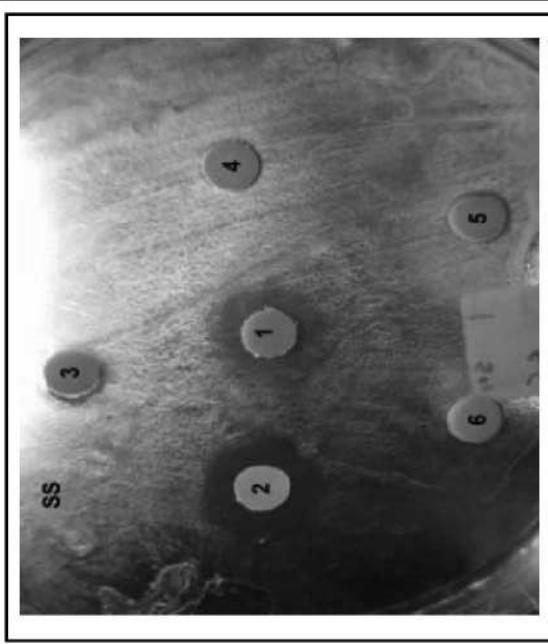
penisilin terhadap *S. aureus*, yaitu pada level 25 mg/ml, saponin dan penisilin mulai menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Tidak efektifnya saponin menghambat bakteri Gram negatif diduga karena saponin tidak cukup mampu melakukan penetrasi ke dalam membran sel bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia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

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.

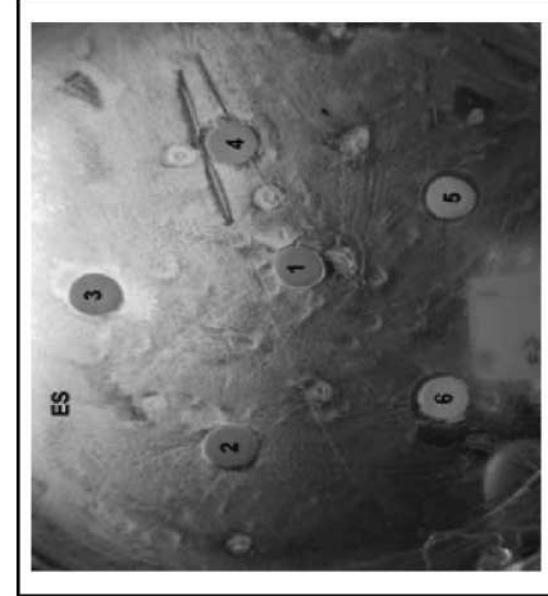
Rahayu (2008), bahwa kadar air dan Aw yang rendah yang terdiri atas unit glukosa dan bersifat melindungi struktur saponin dengan cara mengikat air dari saponin, sehingga oksigen yang larut dapat dikurangi dan selanjutnya proses oksidasi saponin bisa dicegah. Amilum juga berperan sebagai lapisan film 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 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,**



**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 efektivitas 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 Mycrobiology. 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 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 Perikanan. PROTEIN. Vol. 14. No.1. Hal : 31- 36. Pusat Publikasi dan Penelitian Fakultas Peternakan-Perikanan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahayu, I.D. 2008. Produksi Antibiotik Alami Hasil Iso Iasi Aloë Barbadensis Miller : Penanggulangan Mastitis pada Sapi Perah. Laporan Penelitian Hibah Bersaing.
- Soetan k. O., Oyeckunie M.A., Aiyelaagbe O. O. and Fafunso M. A , 2006. Evaluation of the Antibacterial Activity of Saponins Extract of Sorghum bicolor Moench. Africam Journalof Biotechnology. Vol 5, pp. 2405-2407, 4 December 2006.

- Todar, Kenneth. 2000. Controlling Growth with Chemical Agents. University of Wisconsin-Madison.