

Uji *In Vitro* dan *In Vivo* Ekstrak Campuran Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) pada Sapi Penderita Mastitis Sub Klinis

(*In Vitro* and *in vivo* Test of Extract of *Morinda citrifolia* and *Allium sativum* on Subclinical Mastitis Cows)

Sufiriyanto dan Mohandas Indradji

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Abstract

Two subsequent experiments were conducted in the current study. Experiment I (*in vitro*), milk obtained from sub-clinical mastitis dairy cows were used to identify the content of bacteria types causing mastitis. It was identified that the milk contained *Staphylococcus sp* (76.92%), *Streptococcus sp* (15.38%) and *E. coli* (7.69%). In order to determine the optimum combination of *Morinda citrifolia* (M) and *Allium sativum* (A) for reducing the number of the identified bacteria. The milk were randomly assigned to one of four treatments with six replicates in each treatment (Completely Randomized Designed). There were four treatments, which were four kinds of *Morinda citrifolia* (M) to *Allium sativum* (A) ratio, i.e T1 (80:20); T2 (60:40); T3 (40:60); and T4 (20:40). Collected data were analysed using analysis of variance. When analysis of variance indicated significant effects, Least significant different (LSD) was then employed. It is indicated that T1 was the most optimum treatment to reduce bacteria counts. Experiment II (*in vivo*), the purpose of the experiment was to determine the optimum dose of T1 to cure sub-clinical mastitis dairy cows and to investigate the effects of different doses of T1 on milk quality. A total of 20 sub-clinical mastitis dairy cows were randomly treated with one of five treatments for 3 days, which were C (received penicillin), P1 (received T1:100 ml/d); P2 (received T1:200 ml/d); P3 (received T1:300 ml/d) and P4 (received T1:400 ml/d). Analysis for variance was applied followed by dunnett's test. Milk production and somatic cell counts were not significantly ($P>0.05$) affected by the treatments, but they significantly ($P<0.005$) influenced milk dry matter content. Dairy cows treated with P4 produced milk with the highest dry matter content ($11.92 \pm 1.90\%$). In conclusion, The mixtures of *Morinda citrifolia* and *Allium sativum* can cure mastitis and improve milk dry matter content.

Key Words: Mastitis, Dairy cattle, *Allium sativum*, *Morinda citrifolia*, Quality of milk

Pendahuluan

Mastitis secara umum didefinisikan sebagai peradangan jaringan interna kelenjar ambing. Peradangan pada ambing ini disertai perubahan fisik, kimia, mikrobiologik dan adanya kenaikan jumlah sel radang (jumlah sel somatik/SCC), terutama leukosit dalam susu dan dapat disertai dengan perubahan patologi pada jaringan ambing, yang disebabkan oleh infeksi dua golongan bakteri yaitu bakteri gram positif dan gram negatif.

Bakteri gram positif tidak tahan terhadap senyawa fenol dan antraquinon. Senyawa fenol dan antraquinon dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) menekan pertumbuhan

bakteri gram positif, karena kemampuan penetrasi senyawa ini dalam dinding sel bakteri. Senyawa fenol dan antraquinon termasuk senyawa yang larut lemak (Dornenburg dan Knorr, 1994 ; Waha, 2000; Dharmawan dkk., 1999). Lapisan polisakarida pada dinding sel bakteri gram negatif menghalangi masuknya fenol maupun antraquinon. Disini pentingnya senyawa allisin dari bawang putih (*Allium sativum*) yang mampu menetrasi lapisan lipopolisakarida dari dinding sel bakteri gram negatif (Karrosi *et al*, 1993).

Penelitian ini dirancang untuk mendapatkan kombinasi efektif dari ekstrak mengkudu + bawang putih dalam membunuh

bakteri penyebab mastitis dan mengetahui efeknya pada perbaikan kualitas susu sapi perah terinfeksi mastitis subklinis.

Metode Penelitian

Tahapan penelitian dibedakan menjadi 2, yaitu tahap 1 : percobaan *in vitro* untuk mencari kombinasi yang optimal untuk membunuh bakteri patogen mastitis sapi perah, tahap 2 : percobaan *in vivo*, yang bertujuan untuk mencari dosis yang paling optimal dari kombinasi terbaik percobaan tahap 1.

Percobaan tahap 1. Tahap penelitian ini menggunakan percobaan eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 (lima) perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang dicobakan yaitu : kombinasi ekstrak campuran *Allium sativum* (bawang putih, A) dan buah : *Morinda citrifolia* (mengkudu, M) $T_1 = 80\% M : 20\% A$; $T_2 = 60\% M : 40\% A$; $T_3 = 40\% M : 60\% A$; $T_4 = 20\% M : 80\% A$. Masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Kombinasi ini diujicobakan secara *in vitro* pada sampel susu terinfeksi mastitis sub klinis sebanyak 16 sampel. Hasil analisis variansi apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (Steel and Torrie, 1981).

Percobaan tahap 2, bertujuan untuk mengetahui dosis yang tepat ekstrak campuran *Allium sativum* (bawang putih) dan *Morinda citrifolia* (mengkudu). Hasil terbaik penelitian tahap 1 diujicobakan secara *in vivo* pada sapi perah laktasi terinfeksi mastitis (subklinis), menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 (empat) perlakuan dan 4 ulangan. Sebanyak 20 ekor sapi perah laktasi terinfeksi mastitis (subklinis) digunakan sebagai materi percobaan. Adapun perlakuan yang dicobakan yaitu : K = kontrol, pengobatan dengan penisilin, $P_1 =$ dosis campuran (MA) 100 ml per quarter ambing, $P_2 =$ dosis campuran (MA) 200 ml per quarter

ambing, $P_3 =$ dosis campuran (MA) 300 ml per quarter ambing, $P_4 =$ dosis campuran (MA) 400 ml per quarter ambing.

Parameter utama yang digunakan untuk menentukan efektivitas penggunaan ekstrak campuran dalam membunuh bakteri mastitis di atas yaitu : produksi susu (4% FCM, *fat corected milk*), bahan kering dan SCC. Hasil percobaan dianalisis dengan analisis variansi, dan jika antar perlakuan terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji Dunnet's (Steel dan Torrie, 1981).

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap yaitu tahap 1 secara *in vitro* meliputi pengambilan susu sampel mastitis positif dua untuk uji anti bakteri dengan pemberian campuran ekstrak *Morinda citrifolia* (mengkudu) dan *Allium sativum* (bawang putih). Sedangkan tahap 2 dilakukan secara *in vivo*. Hasil tahap 1 yang paling optimal digunakan sebagai pengobatan intra mammae secara irigir intramamaria dengan konsentrasi 0,25%.

Tahap 1 Secara In Vitro

Penelitian *in vitro* dilaksanakan identifikasi sampai genus bakterinya tidak sampai spesies terhadap kepekaan pemberian ekstrak. Pada penelitian ini digunakan sampel susu sapi terinfeksi mastitis sub klinis dengan uji CMT positif 2 (++), karena pada susu penderita mastitis sub klinis uji CMT positif 2 sudah mengalami perubahan kualitas atau kerusakan susu.

Hasil uji bakterial menunjukkan jenis bakteri infeksi pada mastitis sub klinis hanya didapat tiga jenis, yaitu bakteri *Staphylococcus sp* sebesar 76,92%, *Streptococcus sp* 15,38% dan *E coli* 7,69% sedangkan *Corynebacterium sp* tidak ditemukan. Hal ini sesuai dengan Subronto (1985) yang mengatakan bahwa infeksi

mastitis sub klinis pada sapi perah menunjukkan infeksi bakteri *Staphylococcus sp* sebesar 69,56%, *Streptococcus sp* sebesar 17,39% dan *E coli* sebesar 13,04 % sedangkan untuk *Corynebacterium sp* tidak ditemukan. Hal ini tidak sesuai dengan pendapat beberapa peneliti sebelumnya yang menyatakan ada enam bakteri yang dominan pada mastitis adalah *Staphylococcus aureus*, merupakan bakteri yang paling dominan pada mastitis (Soll *et al.*, 2000), dominansinya mencapai 55 – 70 % dari populasi bakteri mastitis (Ebling *et al.*, 2001); *Streptococcus uberis*, *Streptococcus disgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, dominansinya dapat mencapai 20 – 35 % (Zadock *et al.*, 2001), kemudian *Corynebacterium bovis* dan *Escherichia coli* yang dominansinya berkisar antara 5 – 15 % (Bradley dan Green, 2001).

Secara statistik pemberian perlakuan ekstrak mengkudu dan bawang putih pada susu sapi perah yang terinfeksi mastitis sub klinis menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0.05$) antar perlakuan. Perlakuan terbaik diperoleh pada T₁ (dosis *Morinda citrifolia* 80% : *Allium Sativum* 20%) berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hal ini sesuai dengan pendapat Darmawan *dkk* (1999) yang menyatakan bahwa ekstrak mengkudu mampu membunuh kuman gram positif dan sebagian kecil kuman gram negatif dikarenakan ekstrak mengkudu menghasilkan senyawa fenol. Menurut Subronto (1995) menyatakan bahwa fenol merupakan antiseptik yang dipakai dengan konsentrasi maksimal 5% dan khusus untuk kucing maksimal 2%, karena fenol termasuk harganya mahal dan diperlukan dalam konsentrasi besar maka sekarang termasuk tidak banyak digunakan. Diharapkan ekstrak mengkudu ini mampu menghasilkan senyawa fenol yang murah dan dapat berfungsi untuk membasmi kuman atau bakteriasidal.

Antibakteria alizarin dari mengkudu mempunyai struktur kimiawi mirip allisin dari bawang putih. Allisin mengandung sulfur

dengan struktur tidak jenuh dan bersifat membunuh bakteri karena dalam beberapa detik terurai menjadi senyawa dialil disulfida. Allisin merusak protein kuman sehingga kuman menjadi mati dan daya bakteriasidal cukup ampuh sehingga banyak peneliti yang membandingkan allisin dengan penisilin dan bahkan banyak diduga allisin 15 kali lebih kuat dari penisilin (Syamsiah dan Tajudin, 2003). Hal ini yang mendorong peneliti untuk meneliti tingkat keberhasilan pengobatan intra mammae (*in vivo*) menggunakan ekstrak buah mengkudu dan bawang putih dibandingkan dengan pengobatan penisilin.

Tahap 2 Secara *In Vivo*

Uji Farmakologik

Campuran ekstrak mengkudu 80% dan bawang putih 20% diberikan pada sapi terinfeksi mastitis sub klinis uji CMT positif 2 dengan konsentrasi 0,25% secara irigir (Darmawan, 2000). Dosis perlakuan yang diberikan adalah P₁ 100 ml, P₂ 200 ml, P₃ 300 ml dan P₄ 400 ml, sedangkan sebagai kontrol digunakan penisilin. Pemberian perlakuan ekstrak dilakukan setiap hari selama tiga hari, dengan catatan apabila sudah terjadi kesembuhan tidak dilakukan irigir lagi walaupun belum sampai tiga hari. Adapun standar sembuh ditentukan dengan uji CMT positif 1 sampai uji CMT negatif (Surono, 1984). Pemeriksaan CMT ditujukan untuk mengetahui adanya sel dalam air susu, untuk pemeriksaan individu sebaiknya perlu didukung dengan uji mikrobiologik walaupun secara luas dalam praktek lapang uji CMT sudah memberikan gambaran yang meyakinkan.

Produksi Susu Harian

Produksi susu harian dihitung dengan perhitungan berdasarkan jumlah liter produksi sesudah pengobatan mastitis secara irigir menggunakan ekstrak mengkudu 80%

dicampur dengan bawang putih 20% kemudian dikoreksi dengan 4% FCM menggunakan rumus NRC (1988). Data produksi susu setelah pemberian perlakuan, yaitu K (Kontrol Penisilin) sebesar $11,32 \pm 3,20$ Kg, P_1 (100 ml) sebesar $10,68 \pm 3,02$ Kg, P_2 (200 ml) sebesar $7,84 \pm 2,21$ Kg, P_3 (300 ml) sebesar $14,01 \pm 3,96$ Kg dan P_4 (400 ml) sebesar $14,01 \pm 3,96$ Kg. Dari total perlakuan yang diberikan diperoleh rata-rata produksi susu sebesar $11,57 \pm 3,27$ Kg.

Pada penelitian ini hasil analisis secara statistik menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata antar perlakuan atau non signifikan ($P > 0,05$). Hal ini berarti pengaruh pemberian ekstrak mengkudu dan bawang putih sama dengan pemberian penisilin.

Rataan produksi susu yang diukur setelah pengobatan apabila dibandingkan dengan pengukuran produksi sebelum pemberian perlakuan terjadi penurunan produksi rata-rata 18,56%. Hal ini sesuai dengan pendapat William dan Robert (1991) yang menyatakan bahwa sapi penderita mastitis mengalami penurunan produksi susu tergantung dari tingkat infeksi, untuk tingkat infeksi angka SCC 500.000 sel/ml produksi turun sebanyak 6%, untuk 1000.000 sel/ml produksi turun 18% dan untuk SCC 1.500.000 sel/ml produksi turun 29%.

Bahan Kering

Secara kimiawi kandungan bahan kering susu sapi perah setelah pemberian perlakuan ekstrak mengkudu dan bawang putih dengan kontrol pengobatan penisilin, yaitu K (kontrol Penisilin) sebesar $9,34 \pm 1,49\%$, P_1 (100 ml) sebesar $8,22 \pm 1,31\%$, P_2 (200 ml) sebesar $8,43 \pm 1,35\%$, P_3 (300 ml) sebesar $9,50 \pm 1,52\%$ dan P_4 (400 ml) sebesar $11,92 \pm 1,90\%$.

Secara statistik pengaruh pemberian perlakuan ekstrak buah mengkudu dan bawang putih menunjukkan hasil yang signifikan atau berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini berarti pemberian ekstrak mengkudu dan

bawang putih pada masing-masing perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda. Kandungan bahan kering tertinggi dicapai pada perlakuan P_4 (400 ml) yaitu sebesar $11,92 \pm 1,90\%$ dan kadar terendah pada perlakuan P_1 (100 ml) yaitu sebesar $8,22 \pm 1,31\%$. Pengaruh pemberian perlakuan berdasar dosis ekstrak mempunyai garis regresi kuadratik. Hal ini berarti pengaruh dari perlakuan akan naik dimulai dari kontrol (penisilin) dan turun pada P_1 (100 ml) dan kemudian akan naik lagi mulai dari P_2 (200 ml) sampai P_4 (400 ml) sesuai dengan tingkatan dosisnya.

Hal ini sesuai dengan pendapat Bangun dan Sarwono (2001) yang menyatakan mengkudu (*Morinda citrifolia*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa *fenol* dan *antraquinon* pada buahnya yang sangat efektif untuk menekan pertumbuhan bakteri gram positif, karena kemampuan penetrasi senyawa tersebut terhadap dinding bakteri, sedangkan senyawa *allisin* dari bawang putih (*Allium sativum*) mampu menembus lapisan lipopolisakarida dari dinding sel bakteri gram negatif (Santoso, 1988). Sehingga dengan perpaduan yang tepat diantara keduanya dapat dijadikan solusi untuk menanggulangi kejadian mastitis.

Sel Somatik Susu (SCC)

Pada penelitian ini, SCC digunakan untuk standar tingkat kesembuhan mastitis. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data jumlah SCC dengan nilai rata-rata yang diperoleh dari masing-masing perlakuan, yaitu Kontrol (Penisilin) sebesar $129 \times 10^3 \pm 35,39 \times 10^3$ sel/ml, P_1 (100 ml) sebesar $128,75 \times 10^3 \pm 35,32 \times 10^3$ sel/ml, P_2 (200 ml) sebesar $106,50 \times 10^3 \pm 19,38 \times 10^3$ sel/ml, P_3 (300 ml) sebesar $99,75 \times 10^3 \pm 27,36 \times 10^3$ sel/ml dan P_4 (400 ml) sebesar $102,5 \times 10^3 \pm 28,12 \times 10^3$ sel/ml.

Secara statistik jumlah SCC tidak menunjukkan beda nyata antar perlakuan atau

non signifikan ($P > 0,105$). Hal ini berarti pengaruh pemberian ekstrak mengkudu dan bawang putih mempunyai pengaruh yang sama pada berbagai macam dosis dan kontrol penisilin terhadap jumlah SCC. Rataan jumlah SCC dari total perlakuan yang adalah sebesar $113,3 \times 10^3 \pm 31,08 \times 10^3$ sel/ml. Hal ini sesuai dengan Andy *et al* (1997) yang menyatakan bahwa SCC digunakan untuk parameter kualitas susu dianggap umum apabila < 150.000 sel/ml. Selanjutnya dikatakan ada hubungan linier antara jumlah sel somatic dengan jumlah produksi susu, semakin meningkat produksi susu semakin menurun jumlah SCC secara logaritmik.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dapat diambil kesimpulan, bahwa kombinasi ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia*) 80% : bawang putih (*Allium sativum*) 20% efektif untuk membunuh bakteri patogen penyebab mastitis. Selain itu pemberian ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan bawang putih (*Allium sativum*) dapat memperbaiki kualitas susu sapi perah terinfeksi mastitis sub klinis.

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang dosis dan konsentrasi campuran ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan bawang putih (*Allium sativum*) guna mengurangi penyakit mastitis pada sapi perah.

Daftar Pustaka

- Andy, L.S., Arie Brand and Charles J. Sniffen. 1997. Monitoring Milk Production Decision Making and Follow-Up. Herd Health and Production Management in Diry Practice. Wesgeningen Pers. Netherlands. Page 363-279
- Bradley, A.J. and M.J. Green. 2001. An investigation of the impact of intramammmary antibiotic dry cow therapy on clinical coliform mastitis. *J. Dairy Sci.* 84: 1632-1639.
- Dharmawan, N., P. Darmadji dan Eni Harmayani. 1999. Kemampuan ekstrak fraksi-fraksi buah Pace (*Morinda citrifolia*) sebagai antibakteri. Prosiding Seminar Nasional Pangan-Yogyakarta. 14 September 1999.
- Dornenburg, H. and D. Knorr. 1994. Effectiveness of plant-derived and microbial polysaccharides as elicitors for anthraquinone synthesis in *Morinda citrifolia* culture. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 1048-1052.
- Ebling, T.L., L.K. Fox, K.W. Bayles, G.A. Bohach, K.M. Byrne, W.C. Davis, W.A. Ferens and J.K. Hillers. 2001. Bovine mammary immune response to an experimental intramammary infection with a and *Staphylococcus aureus* strain containing a gene for Staphylococcal enterotoxin C1. *J. Dairy Sci.* 84: 2044-2050.
- Hadiwiyoto, S. 1994. Teori dan Prosedur Pengujian Susu dan Hasil Olahannya. Liberty. Yogyakarta.
- Hanzen, S.M., M.J.A.M.P. Pavicic., J.A.C.M. Lohuis, and B. Poutrel. 2000. Use of bovine primary epithelial cells for the comparison of adherence and invasion ability of *Staphylococcus aureus* strains. *J. Dairy Sci.* 83: 418-429.
- Karossi, A.T., M. Hanafi and L. Sutedja. 1993.. Isolation and antibacterial test of garlic oil. *Indon. J. of Appl. Chem.* 3: 49-53.
- Kirubakaran, J.J., K.S. Palaniswami, K. Anbukumar, and B. Mohanasubramanian. 1999. In vitro studies on antibacterial effect of crude garlic on *Escherichia coli*. *Indian Vet.* 76 : 797-799.
- Santoso, H.G. 1989. Bawang Putih. Kanisius, Yogyakarta. Hal : 19-20.
- Sol, J. , O. C. Sampimon, H.W. Barkema, and Y.H. Schukken. 2000. Factors associated with cure after therapy of clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* 83: 278-284.
- Waha, M.G. 2000. *Sehat dengan Mengkudu*. PT Kesaint Blanc Indah Corp. Jakarta.
- Zadoks, R.N., H. G. Allore, H.W. Barkema, O.C. Sampinon, G.J. Wellenberg, Y.T. Grohn, and Y.H. Schukken. 2001a. Cow and quarter level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* 84: 2649-2663.