

**EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS
(*Pluchea indica L*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) MASTITIS
SUBKLINIS HASIL INDUKSI *Staphylococcus aureus*
TERHADAP HISTOPATOLOGI KELENJAR MAMMAE DAN
PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

DHIA INDAH FITRI

125130100111027



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Terapi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L*) Pada Mencit (*Mus musculus*) Mastitis Subklinis Hasil Induksi *Staphylococcus aureus* Terhadap Histopatologi Kelenjar Mamae dan Pembentukan Biofilm Bakteri

Oleh :
DHIA INDAH FITRI
125130100111027

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 24 Juni 2016
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Dosen Pembimbing I, Dosen Pembimbing II,

Dr. Sri Murwani, drh, MP
NIP. 19630101 198903 2 001

Dr. drh. Djoko Winarso, MS
NIP. 19530605 198403 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dhia Indah Fitri
NIM : 125130100111027
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

“Efek Terapi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L) Pada Mencit (*Mus musculus*) Mastitis Subklinis Hasil Induksi *Staphylococcus aureus* Terhadap Histopatologi Kelenjar Mammae dan Pembentukan Biofilm Bakteri”

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain atau plagiat, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 24 Juni 2016

Yang menyatakan,

Dhia Indah Fitri
NIM. 125130100111027

Efek Terapi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L*) Pada Mencit (*Mus musculus*) Mastitis Subklinis Hasil Induksi *Staphylococcus aureus* Terhadap Histopatologi Kelenjar Mammae dan Pembentukan Biofilm Bakteri

ABSTRAK

Mastitis atau penyakit radang ambing merupakan masalah utama dalam peternakan sapi perah yang sering disebabkan oleh infeksi *Staphylococcus aureus*. Mastitis yang disebabkan oleh bakteri tersebut sulit ditangani menggunakan antibiotik karena kemampuannya membentuk biofilm sehingga dapat menimbulkan residu antibiotik pada susu. Zat aktif tanin dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica L*) mempunyai aktivitas antibakteri, antibiofilm, antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah efek terapi ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica L*) dapat mengurangi kerusakan jaringan kelenjar mammae mencit (*Mus musculus*) mastitis subklinis dan menghambat pembentukan biofilm *S. aureus*. Penelitian ini merupakan studi eksperimental, *post-test control design only* menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hewan model yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) laktasi hari ke 12 dengan berat \pm 25 gram yang terdiri dari 5 kelompok percobaan yaitu kelompok kontrol negatif (tidak diinjeksi bakteri dan tidak diterapi), kelompok kontrol positif (diinjeksi *S. aureus* tanpa diterapi), kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 dengan dosis terapi bertingkat yaitu 2,625 mg/25 gram BB mencit, 26,25 mg/25 gram BB mencit dan 52,5 mg/25 gram BB mencit. Parameter yang dilihat adalah histopatologi kelenjar mammae menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) yang dijelaskan secara deskriptif dan pembentukan biofilm menggunakan metode *microtiter plate* yang dianalisa secara statistik ragam *one-way ANOVA* dengan uji lanjutan *tuckey post hoc* ($\alpha=0,05$). Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan kerusakan jaringan kelenjar mammae dan penurunan pembentukan biofilm *S. aureus* pada mencit (*Mus musculus*) mastitis. Simpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica L*) dapat menurunkan kerusakan jaringan kelenjar mammae dan menurunkan pembentukan biofilm *S. aureus* pada mencit (*Mus musculus*) mastitis subklinis dengan dosis terbaik yaitu 52,5 mg/25 gram BB mencit.

Kata kunci : Daun Beluntas, Mastitis subklinis, *Staphylococcus aureus*, Biofilm, Kelenjar mammae

Therapeutic Effect of Ethanol Extract of Beluntas Leaves (*Pluchea indica L*) in Subclinical Mastitis Mice (*Mus musculus*) Models Injected with *Staphylococcus aureus* Towards Mammary Gland Histopathology and Bacterial's Biofilm Formation

ABSTRACT

Mastitis is the main problem in husbandry of dairy cattle and often caused by *Staphylococcus aureus*. Mastitis that is caused by *S. aureus* is difficult to treat with antibiotics because of its ability to form biofilms and cause antibiotic residues in milk. The active tannins substance and flavonoids contained in the ethanol extract of the beluntas leaves (*Pluchea indica L*) has antibacterial, antibiofilm, anti-inflammatory, and antioxidant activity. The purpose of this research to learn the therapeutic effect of ethanol extracts of beluntas leaves (*Pluchea indica L*) whether can decrease the mammary gland tissue damage and biofilm formation in mice (*Mus musculus*) model of subclinical mastitis. This research is an experimental study, post-test control design only that used randomize completed design. The animal model were healthy mice (*Mus musculus*) lactation day 12 with a weight of ± 25 grams consisting of five experimental groups: negative control group (not injected bacteria and untreated), positive control group (injected with *S. aureus* without therapy) and three groups of therapy (2,625 mg / 25 gram weight, 26.25 mg / 25 grams weight and 52.5 mg / 25 gram weight). The histopathology mammary gland was stained by *Hematoxylin eosin* (HE) and analyzed descriptively. Biofilm formation of *S. aureus* using the *microtiter plate* and analyzed statistically variety of *one-way ANOVA* with *post hoc Tuckey* advanced test ($\alpha = 0.05$). The conclusion of this research is a decrease in mammary gland tissue damage through observation of histopathological preparations and decreased biofilm formation *S. aureus* in mice (*Mus musculus*) subclinical mastitis. The conclusions from this research is ethanol extract of beluntas leaves (*Pluchea indica L*) is able to decrease the mammary gland tissue damage and biofilm formation of *S. aureus* in mice (*Mus musculus*) model of subclinical mastitis.

Keywords : *Pluchea indica L*, *Subclinical mastitis*, *Staphylococcus aureus*, *Mammary gland*, *Biofilm*

KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan serangkaian tugas akhir skripsi yang berjudul “Efek Terapi Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L*) pada Mencit (*Mus musculus*) Mastitis Subklinis Hasil Induksi *Staphylococcus aureus* Terhadap Histopatologi Kelenjar Mammae dan Pembentukan Biofilm Bakteri” dengan lancar.

Selama proses penulisan dan penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

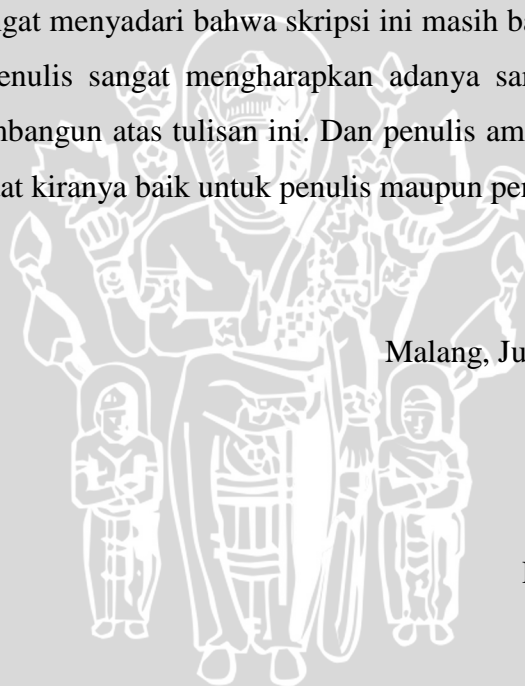
1. Dr. Sri Murwani, drh., MP selaku pembimbing I dan Dr. drh. Djoko Winarso, MS selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat, arahan, serta saran kepada penulis.
2. Drh. Dian Vidiastuti, M.Si dan Ibu Agri Kaltaria Anisa, S.Farm, Apt selaku dosen penguji atas saran yang diberikan.
3. Prof. Dr. Aulanni'am., drh., DES sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang telah memberikan semangat motivasi dan fasilitas untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
4. Secara khusus kepada Ayahanda Yusrizal R, Ibunda Haslinda, Kakak Deka Priatama, S.IP dan Dicky Rizal Putra, S.Sn. Keluarga besar Sambu Dt. Sutan dan Ratius tercinta, Keluarga Kertoraharjo 77B (Kak Anna, Kak Ranthy dan Ichin) dan Kepompong (Reza, VD, Iin, Minor, Balqis dan Ade), Konco (Prima Indah Kurnia, S.KM., Femmy Syahputri, A.Md.Keb., Resi Shilvia), Unbiological sister (Nining Satriani dan Ayu Bellent) untuk doa, kasih sayang, dukungan serta pengorbanan baik moril maupun materi selama ini.
5. BIOFILM team yaitu Alfrida Riski AP, Sulthon NR dan Ahya Nur Afida yang selalu ada dalam kondisi apapun.
6. ASISTEN RADIOLOGI 2016 yang selalu memberikan keceriaan, menjadi keluarga baru dan rekan yang menyenangkan buat kerjasama.

7. Seluruh staf laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dan kerjasama yang telah diberikan selama penulis melakukan penelitian.
8. Seluruh staf dan karyawan FKH, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
9. Keluarga besar Angkatan GENIUS 2012 dan *Class Be The Best* atas cinta, persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
10. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun kritik yang sifatnya membangun atas tulisan ini. Dan penulis amat berharap skripsi ini dapat bermanfaat kiranya baik untuk penulis maupun pembaca.

Malang, Juni 2016

Penulis

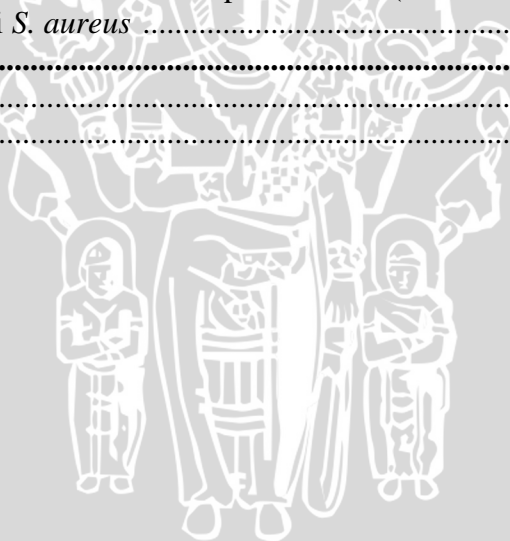


DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GRAFIK	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mastitis	5
2.2 Imunitas Mastitis	6
2.3 Kelenjar Mammae	7
2.4 <i>Staphyococcus aureus</i>	9
2.5 Biofilm	12
2.6 Tanaman Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>).....	13
2.7 Mencit	16
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	19
3.1 Kerangka Konseptual.....	19
3.2 Hipotesis	21
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN	22
4.1 Tempat Dan Waktu	22
4.2 Populasi dan Sampel.....	22
4.2.1 Populasi.....	22
4.2.2 Sampel.....	22
4.3 Perhitungan Sampel.....	23
4.4 Rancangan Penelitian	23
4.5 Variabel Penelitian	25
4.6 Materi Penelitian	25
4.6.1 Bahan Penelitian.....	25
4.6.2 Alat Penelitian.....	25
4.7 Cara Kerja Penelitian.....	26

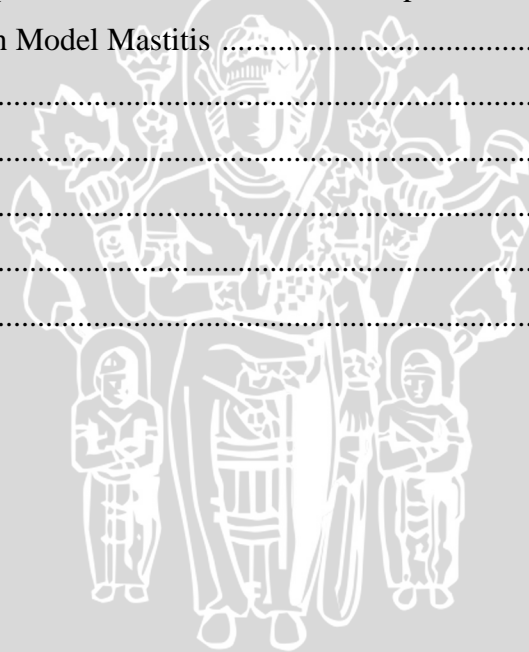


4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	26
4.7.2 Pembuatan Mencit Betina Bunting	26
4.7.3 Pembuatan Hewan Model Mastitis.....	27
4.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol daun Beluntas	27
4.7.5 Dosis Ekstrak Etanol Daun Beluntas.....	27
4.7.6 Pemberian Ekstrak Etanol daun beluntas.....	28
pada tikus model mastitis	
4.7.7 Pembedahan Hewan Coba	28
4.7.8 Pembuatan Preparat Histologi	28
4.7.9 Metode <i>Microtiter Plate</i>	29
4.8 Analisa Data	30
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	32
5.1 Uji Screening Pembentukan Biofilm <i>S. aureus</i> pada Media MCRA	32
5.2 Pemeriksaan Hewan Model Mastitis	33
5.3 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L</i>) terhadap Perbaikan Jaringan Kelenjar Mammae Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Diinjeksi <i>S. aureus</i>	34
5.4 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L</i>) terhadap Pembentukan Biofilm pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Diinjeksi <i>S. aureus</i>	41
BAB VI PENUTUP	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50



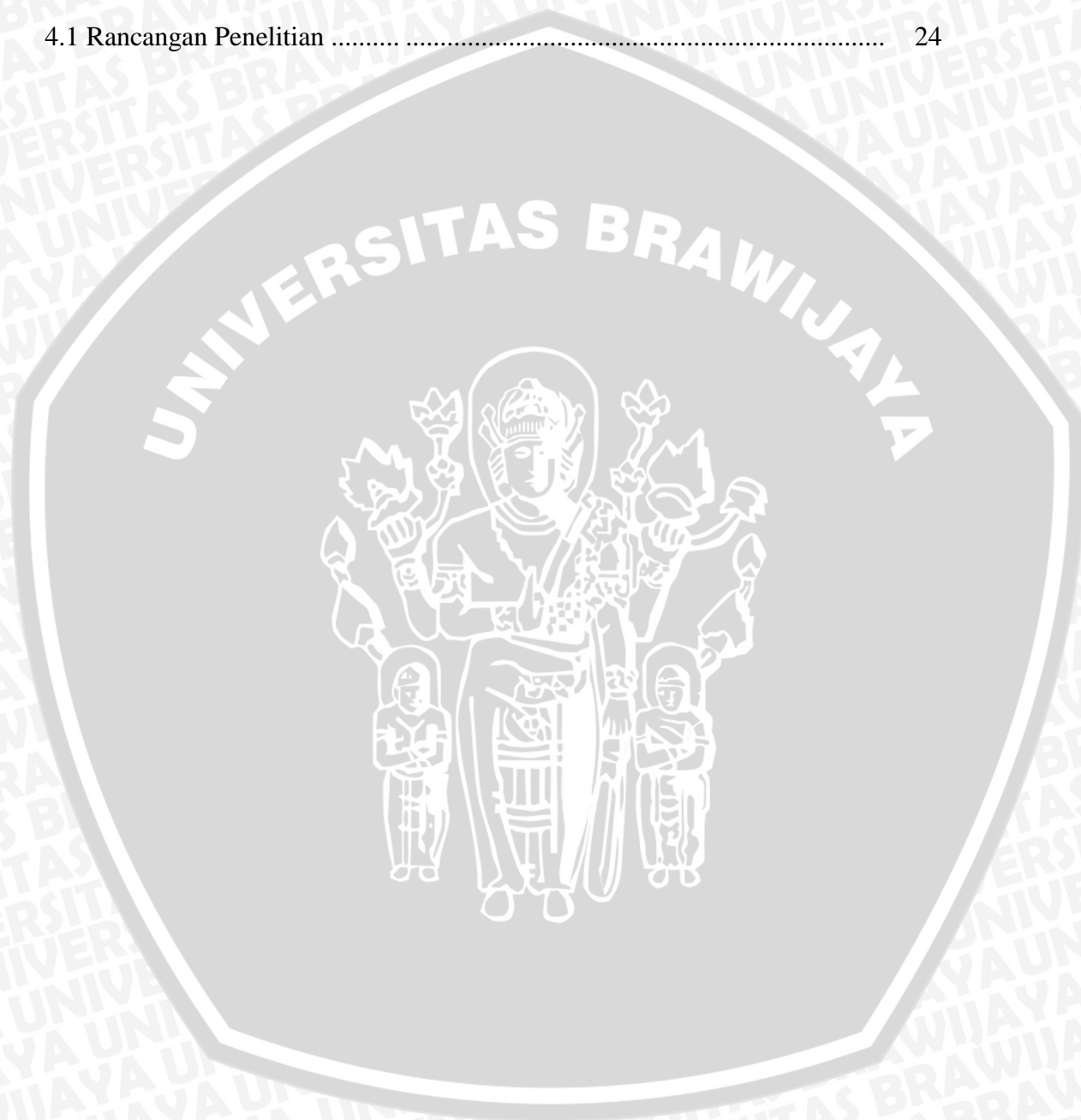
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 A Gambaran kelenjar mammae laktasi induk mencit	8
2.1 B Gambaran kelenjar mammae mencit mastitis	9
2.2 Morfologi daun beluntas	15
2.3 Ciri-ciri mencit (<i>Mus musculus</i>)	18
3.1 Kerangka Konseptual	19
5.1 Hasil uji screening pembentukan biofilm <i>S. aureus</i> pada media MCRA..	32
5.2 Pemeriksaan Hewan Model Mastitis	34
5.3 Kontrol Negatif	36
5.4 Kontrol Positif	36
5.5 Perlakuan 1	37
5.6 Perlakuan 2	37
5.7 Perlakuan 3	38



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Penelitian	24

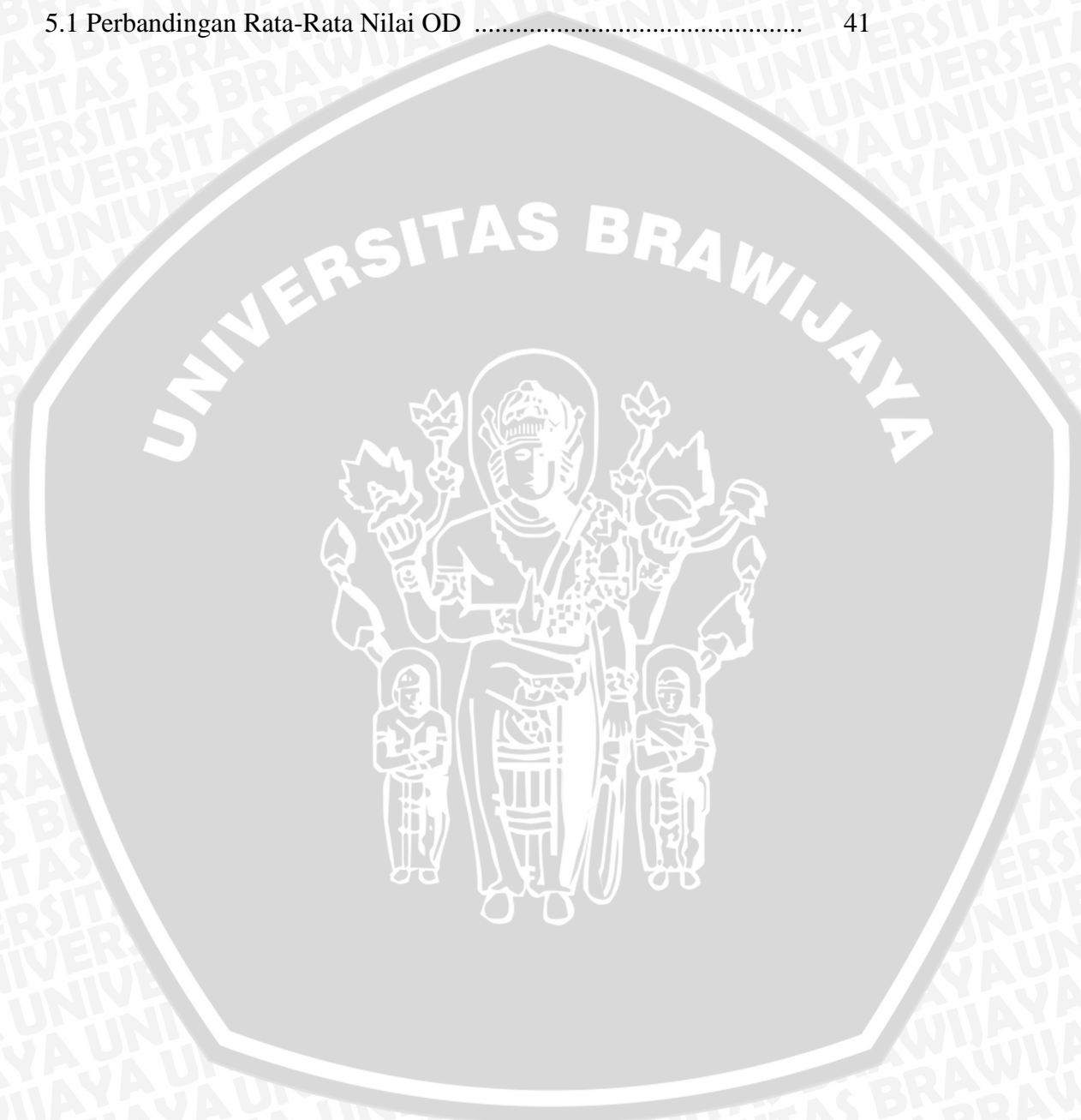


DAFTAR GRAFIK

Grafik

Halaman

5.1 Perbandingan Rata-Rata Nilai OD 41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional	50
2. Perhitungan Dosis HCG dan PMSG	51
3. Perhitungan Konsentrasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	52
4. Perhitungan Dosis Terapi ekstrak etanol daun beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>)	53
5. Pembuatan Mencit Betina Bunting secara <i>In vivo</i>	55
6. Cara Pengambilan Organ	56
7. Pewarnaan Histopatologi Kelenjar Mammae	57
8. Metode Microtiter Plate	58
9. Hasil Uji Statistik <i>Microtiter Plate</i> Biofilm	59
10. Sertifikat Laik Etik	62
11. Determinasi Tanaman Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>)	63

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
μL	MikroLiter
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
Bap	<i>Biofilm associated protein</i>
BB	Berat Badan
BNF	<i>Buffer Netral Formaldehid</i>
BNJ	Beda Nyata Jujur
DMSO	<i>Dimethyl sulfoxide</i>
EPS	<i>Extracellular Polymeric Substance</i>
ETA	<i>Epidermolytic Toxin A</i>
ETB	<i>Epidermolytic Toxin B</i>
FnBPA	<i>Fibronectin-binding proteins</i>
HCG	<i>Pregnant Mare Serum Gonadotropin</i>
HE	<i>Hematoksinilin eosin</i>
Ig A	Imunoglobulin A
Kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililiter
MMP	<i>Modulation of Matrix Metalloproteinase</i>
MTP	<i>Microtiter plate</i>
NB	<i>Nutrient Brooth</i>
NF-kb	<i>Necrosis Factor-kb</i>
nm	nanometer
O ₂ -	Radikal superoksida
OD	<i>Optical density</i>
OH	<i>Hydroxyl radical</i>
PBS	<i>Posphate Buffer Saline</i>
PIA	<i>Polysacharide Intercellular Adhesion</i>
PMN	Polimorfonuklear
PMSG	<i>Pregnant Mare Serum Gonadotropin</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RES	<i>Reticulo Endothelial System</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	Rotasi per menit
RS	Rumah Sakit
SC	<i>Subcutan</i>
SEM	<i>Scanning electron microscopy</i>
SPPS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
Zn	Zink