

**Efek Antimikroba Ekstrak Daun Binahong (*Androdera Cordifolia*  
(*Tenore*) *Steenis*) Pada Ayam Broiler (*Gallus Domesticus*) Yang  
Diinfeksi *Escherichia coli* Berdasarkan Perhitungan  
Jumlah Bakteri dan Histopatologi *Duodenum***

**SKRIPSI**

Oleh :  
**ARGA GUMLEGAR**  
105130103111002



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	<b>x</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Echerichia coli</i> .....	6
2.1.1 Struktur <i>E. coli</i> .....	7
2.1.2 <i>Echerichia coli</i> Patogenik .....	7
2.1.3 Faktor virulensi .....	8
2.2 Kolibasilosis .....	9
2.2.1 Pengaruh Jumlah <i>E. coli</i> Terhadap Timbulnya Penyakit .....	10
2.2.2 Epidemiologi .....	11
2.2.3 Patogenesis .....	11
2.2.4 Gejala Klinis .....	12
2.2.5 Pencegahan .....	12
2.2.6 Pengobatan.....	13
2.3 Tanaman Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) .....	14
2.3.1 Ekstraksi Tanaman Binahong dengan Metode Maserasi.....	15
2.3.2 Zat Antimikroba Tanaman Binahong .....	16
2.4 Hewan Model Ayam Collibacilosis .....	18
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep .....	20
3.2 Hipotesis Penelitian .....	23
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b>	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	24
4.2 Alat dan Bahan .....	24
4.3 Tahapan Penelitian .....	25
4.4 Prosedur Kerja .....	25
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba .....	25
4.4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong .....	27
4.4.2.1 Pembuatan Simplisia Daun Binahong .....	27
4.4.2.2 Ekstraksi Daun Binahong Dengan Metode Maserasi .....	28

4.4.3 Preparasi Ayam Kolibasilosis dengan Infeksi <i>E. coli</i> .....	28
4.4.4 Penentuan Dosis dan Terapi Ekstrak Daun Binahong .....	29
4.4.5 Penghitungan Jumlah <i>E. coli</i> Pada <i>Duodenum</i> Ayam Dengan Metode <i>Colony Counter</i> .....	30
4.4.6 Euthanasi Ayam Infeksi <i>E. coli</i> .....	30
4.4.7 Analisis Hasil Preparat Histopatologi <i>Duodenum</i> Ayam Dengan Pewarnaan Hematoxylin-eosin.....	30
4.4.8 Analisis Data.....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>41</b>



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Rancangan Perlakuan Percobaan .....	25



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Daun Binahong <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis .....	6
2.2 Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	11
3.1 Kerangka Konseptual .....	19



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Penelitian .....	38
2. Daun Binahong .....	39
3. Perhitungan Dosis Terapi Esktrak Daun Binahong .....	41
4. Pemberian Infeksi Bakteri <i>E. coli</i> .....	43
5. Kulturasi Bakteri <i>E. coli</i> Pada Media EMBA .....	44
6. Perhitungan Colony Counter.....	45
7. Pembuatan Preparat Histopatologi.....	46
8. Pembuatan Larutan .....	47



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<b>Simbol / singkatan</b>	<b>Keterangan</b>
ANOVA	<i>Analysis Of Varian</i>
DOC	<i>Day Old Chick</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
APEC	<i>Avian Pathogenic Escherichia coli</i>
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>
mg	miligram
kg	kilogram
BB	Berat Badan
µm	<i>mikrometer</i>
ETEC	<i>Enterotoksigenik</i>
EPEC	<i>Enteropatogenik</i>
EIEC	<i>Enteroinfasiv</i>
EHEC	<i>Enterohemoragik</i>
SLT	<i>Shiga-Like Toxin</i>
LT	<i>Heat-Labile Toxin</i>
ST	<i>Heat-Stabile Toxin</i>
EMBA	<i>Eosin Methylen Blue Agar</i>
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
RAL	<i>Rancangan Acak Lengkap</i>
RPM	<i>Rotation Per Minutes</i>
TPC	<i>Total Plate Count</i>
HE	Hematoxilin Eosin

repository.ub.ac.id

**EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Andredera Cordifolia*) PADA  
AYAM BROILER (*Gallus Domesticus*) YANG DIINFEKSI *Escherichia coli*  
BERDASARKAN PERHITUNGAN JUMLAH BAKTERI DAN  
HISTOPATOLOGI DUODENUM**

**ANTIMICROBIAL EFFECT OF BINAHONG LEAF EXTRACT (*Anredera cordifolia*)  
IN BROILER CHICKEN (*Gallus gallus domesticus*) INFECTED BY *Escherichia coli*  
BASED ON THE CALCULATION OF TOTAL BACTERIA AND  
HISTOPATHOLOGY APPEARANCE OF DUODENUM**

Oleh :

Arga Gumlegar\*, Edhy Sudjarwo, Analis Wisnu Wardhana  
Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Program Kedokteran Hewan,  
Universitas Brawijaya

\*Email : argagumlegar@yahoo.com

**ABSTRAK**

Kolibasilosis adalah penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* sebagai agen primer ataupun sekunder. Penggunaan antibiotik menjadi salah satu cara untuk menangani infeksi pada ayam, namun penggunaannya kini mulai dikurangi karena menimbulkan dampak bagi konsumen daging ayam berupa residu obat pada daging. Residu antibiotik pada produk ternak dapat menimbulkan resistensi bakteri, masalah dalam pengolahan produk asal daging dan gangguan kesehatan bagi konsumen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba pemberian ekstrak daun binahong (*Andredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) pada ayam broiler (*Gallus Domesticus*) yang diinfeksi *Escherichia coli* terhadap perhitungan jumlah bakteri dan histopatologi *duodenum*. Sebanyak 20 ekor ayam umur 14 hari dibagi kedalam lima kelompok perlakuan dan empat ulangan. Kelompok perlakuan sebagai berikut : Kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif kolibasilosis, kelompok ayam kolibasilosis dengan dosis terapi ekstrak binahong 500 mg/kg BB, kelompok ayam kolibasilosis dengan dosis terapi ekstrak binahong 700 mg/kg BB dan kelompok ayam kolibasilosis dengan dosis terapi ekstrak binahong 900 mg/kg BB. Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah *one way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji lanjutan Tukey 5%.

**Kata kunci** : Kolibasilosis, Ekstrak Daun Binahong, Jumlah bakteri dan Histopatologi *duodenum*.

**ABSTRACT**

Colibacillosis is an infectious disease in poultry caused by *Escherichia coli* as primary or secondary agents. Antibiotic is one way to give therapy in infection chicken, but it has negative impact for consumer because of drug residues in chicken meat. This research used 20 broiler chicken (*Gallus gallus domesticus*) aged 14 days that divided into 5 groups: control group, positive colibacillosis group, colibacillosis with 800mg/kg BW binahong leaf extract therapy, colibacillosis with 1000mg/kg BW binahong leaf extract therapy and colibacillosis 1200mg/kg BW binahong leaf extract therapy. The result of this research is the best deterioration was generated by the 1200mg/kg BW dose therapy with decrease percentage of *Escherichia coli* at 41%. Moreover, giving the binahong leaf extract therapy effected the improvement of the damaged villous structure and goblet cells became better with normal villous structure and decrease goblet cells. It could be concluded that the binahong (*Andredera Cordifolia*) leaf extract therapy could be use at alternative therapy for colibacillosis.

**Keyword** : colibacillosis, binahong leaf extract, total bacteria and histopathology of duodenum.



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kebutuhan masyarakat akan daging ayam untuk pemenuhan sumber protein semakin meningkat dan hal ini diikuti dengan kebutuhan daging sapi yang menurun karena faktor populasi yang semakin menurun. Oleh karena itu, masyarakat beralih mengonsumsi daging ayam untuk memenuhi kebutuhan protein. Hal inilah yang member dorongan untuk mengembangkan dan meningkatkan usaha peternakan ayam potong (Suprijatna, 2003).

Peternakan merupakan sektor yang memiliki peluang sangat besar untuk dikembangkan sebagai usaha di masa depan. Kebutuhan masyarakat akan produk – produk peternakan akan semakin meningkat setiap tahunnya. Peternakan sebagai penyedia protein, terutama peternakan ayam potong memiliki peran sangat penting, seiring pula meningkatnya kesadaran masyarakat akan kebutuhan gizi guna meningkatkan kualitas hidup.

Penyebab penurunan produksi daging adalah gangguan penyakit, penyakit yang sering menyerang pada ayam pedaging adalah penyakit Coli (Colibacillosis). Memang saat ini Colibacillosis masih susah ditangani, padahal kerugian yang ditimbulkannya tidaklah sedikit. E.coli bersifat pathogen dan infeksi yang dapat membentuk kematian embrio pada telur tetas, infeksi yolk sac, inflamasi, koliseptikemia, airsacculitis, enteritis, infeksi alat reproduksi infeksi alat reproduksi. Berbagai bentuk kolibacillosis memiliki dampak ekonomis yang penting pada industri perunggasan, karena mengakibatkan gangguan permbuhan, penurunan produksi, peningkatan jumlah ayam yang di afkir, penurunan kualitas karkas dan telur, penurunan daya tetas telur dan kualitas anak ayam hasil tetassertamendukung timbulnya penyakit

repository.ub.ac.id

t yang kompleks pada saluran pernafasan, pencernaan ataupun reproduksi yang cukup sulit di berantas. Hal ini dihubungkan dengan rendahnya laju pertumbuhan, tingginya angka kematian dan tingginya konversi ransum. Kerugian lain akibat Colibacillosis adalah penurunan kualitas daging dan menurunnya minat pembeli, sehingga para peternak akan merugi (Effendi, 1999).

Penggunaan antibiotik menjadi salah satu cara untuk menangani penyakit pada ayam salah satunya kolibasilosis, namun penggunaannya kini mulai dikurangi karena menimbulkan dampak bagi konsumen daging ayam berupa residu obat pada daging.

Residu antibiotik pada produk ternak dapat menimbulkan resistensi bakteri, masalah dalam pengolahan produk asal daging mengganggu kesehatan bagi konsumen (Soeripto, 2002).

Resistensi terhadap antibakteri menjadi masalah, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berasal dari tanaman yang dapat membunuh bakteri untuk menghindari terjadinya resistensi seperti dalam penggunaan antibiotik. Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat antibakteri adalah “Binahong” (*Anrederacordifolia* (Tenore) Steenis). Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada kultur in vitro daun binahong mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin yang dapat menjadi antibakteri. Penelitian Rochani (2009),

melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etilasetat dan etanol, setelah dilakukan uji fitokimia ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid. Tanaman binahong memiliki kandungan polifenol, alkaloid, dan asamoleanolik. Kandungan-

kandungan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan juga bersifat sebagai zat anti inflamasi. Pada penelitian ini ingin mengetahui manfaat ekstrak daun binahong

(Anrendera Cordifolia (Tanore) Stenesis)  
sebagai terapi Colibacillosis berdasarkan pada perhitungan jumlah bakteri pada organ  
*duodenum* dan histopatologi *duodenum*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak binahong (Anrendera Cordifolia (Tanore) Stenesis) dapat menurunkan jumlah bakteri *E. coli* pada ayam Colibacillosis hasil induksi bakteri *E. coli*?
2. Apakah pemberian ekstrak binahong (Anrendera Cordifolia (Tanore) Stenesis) dapat memperbaiki gambaran histopatologi *duodenum* pada ayam Colibacillosis hasil induksi bakteri *E. coli*?

## 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

- 1) Hewan model yang digunakan adalah ayam broiler umur 10 hari, dengan berat badan 900-1000 gram (Koswara, 2009) yang diperoleh dari Peternakan Argo Makmur Farm.
- 2) Pembuatan keadaan Colibacillosis pada hewan model ayam dilakukan pada hewan model ayam dilakukan dengan cara infeksi bakteri *E. coli* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, universitas Brawijaya. Infeksi bakteri *E. coli* secara oral dengan dosis  $10^8$  CFU yang diberikan sebanyak 1 ml (Wientarsih *et al*, 2013) dilakukan pada hewan model ayam umur 18 hari (Peighambari, 2000)
- 3) Ekstrak binahong yang digunakan diperoleh dari UPT Meterina Medica Batu dan telah mendapat keterangan identifikasi oleh Laboratorium Taksonomi dan Struktur Tumbuhan, UPT Meterina Medica, Batu, Malang.

- 4) .Ekstrak Daun binahong menggunakan metode maserasi dengan pelarut etilasetat (Khunaifi, 2010).
- 5) Dosis pemberian ekstrak binahong terdiri dari 800 mg/kg BB (Khunaifi, 2010), 1000 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB selama 10 hari..
- 6) Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah bakteri *E. coli* pada duodenum dengan metode colony counter dan gambaran histopatologi duodenum menggunakan pewarnaan Hematosilin – Eosin.

#### 1.4 Tujuan

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui peran ekstrak binahong dalam menurunkan jumlah bakteri *E. coli* pada ayam *Collibacilos* hasil induksi biakan bakteri *E. coli*
2. Mengetahui peran ekstrak binahong dalam memperbaiki gambaran histopatologi duodenum pada ayam *Collibacilos* hasil induksi biakan bakteri *E. coli*

#### 1.5 Manfaat

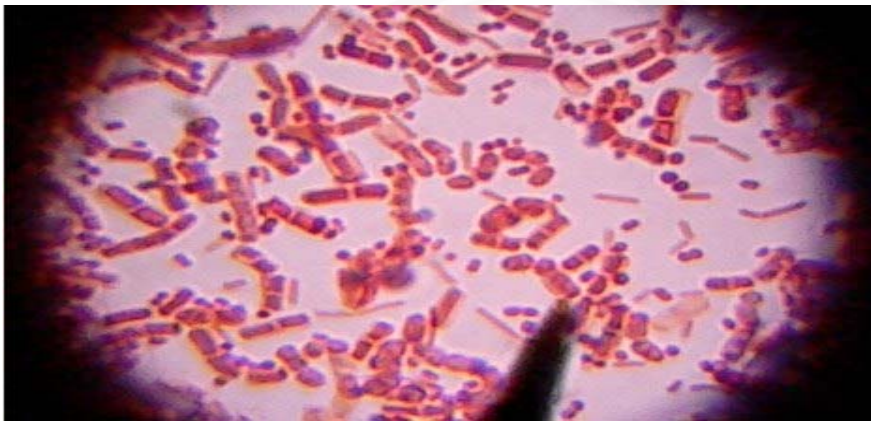
Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk meningkatkan khasanah ilmu pengetahuan masyarakat dalam memberikan informasi akan manfaat ekstrak binahong sebagai salah satu produk alternatif penyakit colibacillosis pada peternakan ayam.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0  $\mu\text{m}$ , termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob Gambar 2.2 (Carter *and* Wise, 2004).



**Gambar 2.1** Morfologi *Escherichia coli* (Kunkel, 2009)

Klasifikasi *E. coli* menurut Songer *and* Post (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

#### 2.1.1 *Escherichia coli* Patogenik

Berdasarkan perbedaan serotipe dan virulensi, strain *E. coli* patogen yang menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan dibedakan menjadi enam golongan, yaitu *enterotoksigenik* (ETEC), *enteropatogenik* (EPEC), *enteroinvasif* (EIEC), dan *enterohemorhagik* (EHEC) (Sommer *et al.* 1994). Golongan ETEC merupakan penyebab diare enterotoksigenik pada mamalia, seperti anak sapi, anak babi, dan anak domba. Gejala klinis yang terjadi antara lain diare, dehidrasi, asidosis, bahkan kematian (Hanif, *et al.*, 2003). EPEC menimbulkan gejala klinis diare, konsistensi feses sangat cair, tidak ada darah, nyeri perut terutama daerah umbilikus (karena kelainan terutama di daerah usus halus), kembung, mual, muntah dan demam ringan (Djojoningrat, 2006). EIEC dapat menimbulkan demam, perut kram, tinja berlendir dan berdarah seperti disentri. EHEC merupakan salah satu strain *E. coli* yang dapat menyebabkan enterohaemorrhagic didalam saluran pencernaan manusia, EHEC yang tumbuh dan berkembang sehingga jumlahnya banyak dapat menghasilkan toxin. Toxin yang dihasilkan adalah verotoxin atau disebut sebagai *shiga-like toxin* (SLT) (Jawertz, *et al.*, 2005).

### 2.1.2 Struktur *E. coli*

Struktur sel *E. coli* dikelilingi oleh membran sel, terdiri dari sitoplasma yang mengandung *nukleoprotein*. Membran sel *E. coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *E. coli* menjulur dari permukaan sel (Tizard, 2004). Tiga struktur antigen utama permukaan yang digunakan untuk membedakan serotipe golongan *E. coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagela. Dinding sel *E. coli* berupa *lipopolisakarida* yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta diklasifikasikan sebagai antigen O. Kapsul *E. coli* berupa *polisakarida* yang dapat melindungi membran luar dari fagositik dan sistem komplemen, diklasifikasikan sebagai antigen K. Flagela *E. coli* terdiri dari protein yang bersifat antigenik dan dikenal sebagai antigen H (Quinn, *et al.*, 2002).

Kolibasilosis pada unggas umumnya disebabkan oleh *avian pathogenic E. coli* (APEC) (Tabbu, 2000). Menurut Peighambari (2000) pada infeksi buatan dengan *E. coli*, kolibasilosisi



terjadi pada ayam berumur 2 sampai 4 minggu. Bakteri *E. coli* ditemukan dengan jumlah yang melimpah pada air dengan kualitas yang rendah. Bakteri *E. coli* disebut juga koliform fekal, hal ini karena *E. coli* ditemukan didalam saluran usus ternak dan manusia dan didapatkan di dalam feses, sehingga *E. coli* dikenal sebagai indikator kontaminasi kotoran (Tabbu, 2000).

### 2.1.3 Faktor Virulensi

Faktor penentu virulensi *E. coli* yang terpenting pada unggas adalah antigen polisakarida K-1. Antigen tersebut terdapat pada kapsula dan sangat meentukan resistensi terhadap pertahanan inang selama roses septisemia (Dho-moulin, 2000). *Escherichia coli* juga memiliki dua jenis pili yang menentukan sifat adesi bakteri, yaitu pili tipe I dan pili tipe P. Pili tipe I berperan dalam kolonisasi awal bakteri pada saluran pernapasan bagian atas, sedangkan pili tipe P bertanggung jawab atas kolonisasi pada organ internal. Pili tipe P dianggap berperan penting dalam infeksi sistemik (Knobl *et al.* 2006). Ada pula APEC yang memiliki senyawa dengan berat molekul rendah yang disebut aerobaktin dan berperan dalam sistem *up take* zat besi (FE) yang memungkinkan untuk tumbuh pada kondisi jaringan dengan kadar *Fe* yang terbatas (Peighambari, 2000). *Avian Pathogenic Eshericia Coli* juga memiliki protein *Tsh* dan senyawa semacam ini tidak ditemukan pada *E. coli* yang diisolasi dari tinja ayam sehat (Maurer, *et al.*, 2002). *Tsh* tampaknya berperan dalam tahap awal infeksi pada kantong udara ayam (Dozois, *et al.*, 2000).

## 2.2 Kolibasilosis

Kolibasilosis adalah penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* patogen sebagai agen primer ataupun sekunder. Kejadian Kolibasilosis banyak ditemukan pada ayam pedaging, terutama yang berumur muda, antara 1 – 2 minggu. Angka kematian bisa mencapai 10% dan akan lebih besar lagi apabila disertai infeksi lain yang mengikutinya,



seperti :*Newcastle Disease*, *M. gallisepticum* atau *Infectious Bronchitis* (Charlton,*et al.*, 2000).

Kolibasilosis pada unggas disebabkan oleh *avian pathogenic E. coli* (APEC) (Mellata, *et al.*, 2003). Infeksi APEC dapat berbentuk kematian embrio pada telur tetas, infeksi *yolk sac*, koliseptikemia, airsaculitis, enteritis, infeksi reproduksi (ooforitis, salpingitis) dan koligranuloma (Tabbu, 2000). *Avian pathogenic E. coli* juga dapat menyebabkan dermatitis nekrotika atau selulitis, yaitu radang pada jaringan subkutan terutama pada otot dada bagian bawah (Mellata, *et al.*, 2003). Selulitis cenderung menyerang ayam broiler (Peighambari, 2000). Pada ayam broiler, penyebab selulitis berasal dari bakteri yang ada pada litter dan menginfeksi melalui luka/goresan pada kulit dada dan sekitarnya (Macklin, *et al.*, 2002). Pada waktu hidup ayam nampak normal dan kejadian selulitis ini baru diketahui pada saat inspeksi pemotongan ayam (Charlton, 2000). Menurut Brito (2003) selulitis menyebabkan kerusakan karkas dan peningkatan angka afkir sampai 42,5 %.

Dalam kondisi normal *E. coli* terdapat di dalam saluran pencernaan ayam. Bagian usus yang paling banyak mengandung bakteri tersebut adalah *jejunum*, *ileum* dan *sekum*. Jenis *E. coli* yang terdapat di dalam usus tidak selalu sama dengan jenis yang ditemukan pada jaringan lain (Tabbu, 2000).

### **2.2.1 Pengaruh Jumlah *E. coli* Terhadap Timbulnya Penyakit**

Sebagian besar *E. coli* merupakan flora normal usus kecil dan usus besar yang umumnya tidak menyebabkan penyakit (non-patogenik). Non-patogenik *E. coli* dapat menyebabkan penyakit jika berada di luar usus misalnya, ke dalam saluran kemih (infeksi kandung kemih atau ginjal), maupun ke dalam aliran darah (sepsis) (Ragione and Woodward, 2009). Pada ayam, ada sekitar  $10^6$  *colony forming unit* (CFU) bakteri per gram tinja yang berperan sebagai flora normal. *Escherichia coli* juga sering diisolasi dari saluran pernapasan ayam bagian atas (Rahman, *et al.*, 2004). Pada ayam yang sehat, sekitar 10%-15% dari seluruh *E. coli* yang

ditemukan didalam usus tergolong serotipe yang patogen (Tabbu, 2000). Penelitian yang dilakukan Wientarsih, *et al.* (2013) tentang pengobatan alternatif Kolibasilosis pada ayam pedaging didapatkan konsentrasi minimum *E. coli* patogen untuk menimbulkan patogenisitas sebesar  $10^8$  CFU dengan dosis infeksi sebanyak 1 ml.

### 2.2.2 Epidemiologi

Kolibasilosis biasanya ditemukan pada lingkungan yang kotor dan berdebu atau pada sekelompok ayam yang mengalami stres akibat lingkungan. Penyebaran secara langsung dapat melalui udara atau percikan air liur terhadap ayam yang peka di sekitarnya (Ley, 2003). Penularan secara tidak langsung dapat terjadi melalui kontak antara ayam yang sensitif dengan bahan-bahan yang tercemar oleh leleran tubuh atau feses ayam yang menderita Kolibasilosis. Penularan biasanya terjadi secara oral melalui pakan, minuman atau debu yang tercemar *E. coli* (Tabbu, 2000).

### 2.2.3 Patogenesis

Infeksi *E. coli* dimulai saat bakteri masuk ke dalam saluran pernafasan bagian bawah dan akan melekat di permukaan epitel saluran pencernaan yang kebanyakan pada usus yaitu bagian *duodenum*, *jejunum*, *ileum* dan *sekum*. Perlekatan yang spesifik dari bakteri ini disebabkan karena adanya vili yang dimilikinya. Bakteri akan berkolonisasi dan bermultiplikasi secara menerus, kemudian menginvasi sel-sel atau jaringan dan memproduksi toksin yang dapat menyebabkan radang atau kerusakan pada organ. Perlekatan bakteri akan diteruskan dengan masuknya bakteri ke dalam peredaran darah yang akan menyebabkan kerusakan organ, seperti kerusakan kantong udara atau *airsakulitis*, perikardium jantung, kapsula hati atau *perihepatitis*, mesenteritis, salpingitis, dan arthritis (Tarmudji, 2003).

#### 2.2.4 Gejala Klinis

Hasil penelitian Radji, *et al.* (2003) menunjukkan *E. coli* patogen pada unggas dapat menimbulkan gejala klinis berupa anoreksi, bulu-bulu kasar dan kusam, nafsu makan menurun, diare berwarna hijau, berbau khas dan menutupi di sekitar kloaka.

Pada ayam dewasa nampak gejala lesu, nafsu makan turun, kurus, muncul gangguan pernafasan berupa ngorok pada malam hari, serta feses encer berwarna hijau. Perubahan pasca mati yang sering terlihat adalah adanya eksudat dan radang kantung hawa, usus, indung telur (salpingitis), selaput jantung (pericarditis), dan tali pusar (omphalitis) (Nugroho, *et al.*, 2002).

#### 2.2.5 Pencegahan

Praktek manajemen yang ketat sangat diperlukan untuk menanggulangi Kolibasilosis. Kualitas pakan, sumber air minum yang bebas bakteri, sistem perkandangan yang baik, sanitasi/desinfeksi yang ketat, program vaksinasi dilakukan secara teratur dan tepat waktu dan pengaturan pekerja perlu dijaga ketat (Tabbu, 2000).

Menurut Retno (2008), pencegahan penyakit ini dapat dilakukan dengan (1). Melakukan sanitasi kandang dan peralatan (dengan antiseptik, formalin atau sporsides), mencegah tamu yang tidak berkepentingan, hewan liar dan hewan peliharaan lain masuk ke lingkungan kandang. Desinfeksi tempat minum dilakukan 4 hari sekali, mengatur jadwal desinfeksi. (2). Usaha peternakan dikelola dengan baik agar nyaman, jumlah ternak tidak terlalu padat, ventilasi kandang cukup dan diusahakan agar amonia kurang di dalam kandang. (3). Sanitasi tempat minum 2 kali sehari. Rendam tempat minum yang telah dicuci dalam mediseptik 25 ml tiap 10 L selama 30 menit, setiap 4 hari sekali. (4). Cegah litter menjadi sangat kering dan berdebu dengan tidak memasang litter terlalu tebal (ketebalan litter cukup 7-12 cm).

#### 2.2.6 Pengobatan

Berbagai jenis antibiotika dan obat-obatan telah digunakan untuk pengobatan kolibasilosis, beberapa diantaranya adalah: *tetrasiklin*, *neomisin*, *obat-obat sulfa*, *fluoroquinolone* dan sebagainya (Charlton, *et al.*, 2000). Menurut Tabbu (2000) pengobatan dengan antibiotik/antibakteri yang sesuai terhadap infeksi kolibasilosis yang ringan, mungkin masih bermanfaat. Namun sebaiknya, sebelum pengobatan perlu dilakukan uji sensitivitasnya terlebih dulu, tetapi pada infeksi yang berat, terutama bila penyakitnya merupakan masalah yang dominan pada suatu flock, maka usaha pengobatan sangat jarang memberikan hasil yang memuaskan.

Laporan Zanella, *et al.* (2000) bahwa Sebaiknya pengobatan Kolibasilosis menggunakan enrofloxacin dan ampicilin dikarenakan *E. coli* resisten terhadap *tetrasiklin*, *linkomisin*, *kloramfenikol*, *nadilic acid* dan *kanamisin*. Ketidakmampuan antibiotik tersebut melawan *E. coli* ini, karena obat-obatan itu sering digunakan oleh peternak untuk pengobatan penyakit bakterial pada ayam.

### **2.3 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah *Dheng shan chi*, dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* (Manoi, 2009). Bagian tanaman binahong yang bermanfaat sebagai obat pada umumnya adalah rhizome, akar dan daun. Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun binahong dan kandungan metabolit

sekundernya pernah dilakukan, bahwa dalam simplisia daun binahong terkandung senyawa alkaloid, flavoloid, dan saponin (Annisa, 2007).

Tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, akar berbentuk rimpang, berdaging lunak dengan batang silindris, saling membelit dan berwarna merah. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, panjang 5-10 cm dan lebar 3-7 cm seperti pada Gambar 2.1 (Mus, 2008).



**Gambar 2.1** Daun Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Mus, 2008).

Klasifikasi tanaman binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Menurut Mus (2008)

adalah :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Hamamelidae
- Ordo : Caryophyllales
- Famili : Basellaceae
- Genus : *Anredera*



### 2.3.1 Ekstraksi Tanaman Binahong dengan Metode Maserasi

Ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel, 2005). Salah satu metode ekstraksi bahan alam, yaitu metode maserasi. Maserasi adalah metode perendaman. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenter, 2006). Maserasi merupakan cara yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain (Ahmad, 2006).

Pelarut yang umum digunakan dalam penelitian berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu pelarut etil asetat. Etil asetat adalah senyawa organik yang merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil, tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menyaring senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid polihidroksi dan fenol yang lain (Rowe, *et al.*, 2009). Setiaji (2009) telah melakukan ekstraksi pada rhizome binahong dengan pelarut etil asetat di dapatkan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol.

### 2.3.2 Zat Antimikroba Tanaman Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

Penelitian Rochani (2009), melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji fitokimia ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid. Kemampuan binahong untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit ini berkaitan erat dengan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna, *et al.*, 2003).

Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Flavanoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri (Manoi and Balitro, 2009). Khunaifi (2010) menambahkan bahwa senyawa-senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa flavanoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antibakteri) dan anti virus bagi tanaman. Para peneliti lain juga menyatakan pendapat sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavanoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavanoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Sabir, 2008). Didukung juga dengan penelitian Mirzoeva, *et al.* (1997) mendapatkan bahwa flavanoid mampu menghambat motilitas bakteri.

## 2.4 Hewan Model Ayam Collibacilosis

Hewan coba merupakan hewan yang dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan coba. Ayam merupakan salah satu unggas yang memiliki angka prevalensi tinggi terhadap collibacilosis. Ayam menunjukkan perbedaan morfologi di antara kedua tipe [kelamin](#) (dimorfisme seksual). Ayam jantan (*jago*, *rooster*) lebih atraktif, berukuran lebih besar, memiliki [jalu](#) panjang, [berjengger](#) lebih besar, dan [bulu](#) ekornya panjang menjuntai. Ayam betina (*babon*, *hen*) relatif kecil, berukuran kecil, jalu pendek atau nyaris tidak kelihatan, [berjengger](#) kecil, dan bulu ekor pendek. Perkelaminan ini diatur oleh sistem hormon. Apabila terjadi gangguan pada fungsi [fisiologi](#) tubuhnya, ayam betina dapat berganti kelamin menjadi jantan karena ayam dewasa masih memiliki [ovotestis](#) yang [dorman](#) dan sewaktu-waktu dapat aktif.

Klasifikasi Ayam menurut Myres & Armitae (2004).

Kerajaan: [Animalia](#)

Filum: [Chordata](#)

Kelas: [Aves](#)

Ordo: [Galliformes](#)

Famili: [Phasianidae](#)

Genus: [Gallus](#)

Spesies: [G. gallus](#)

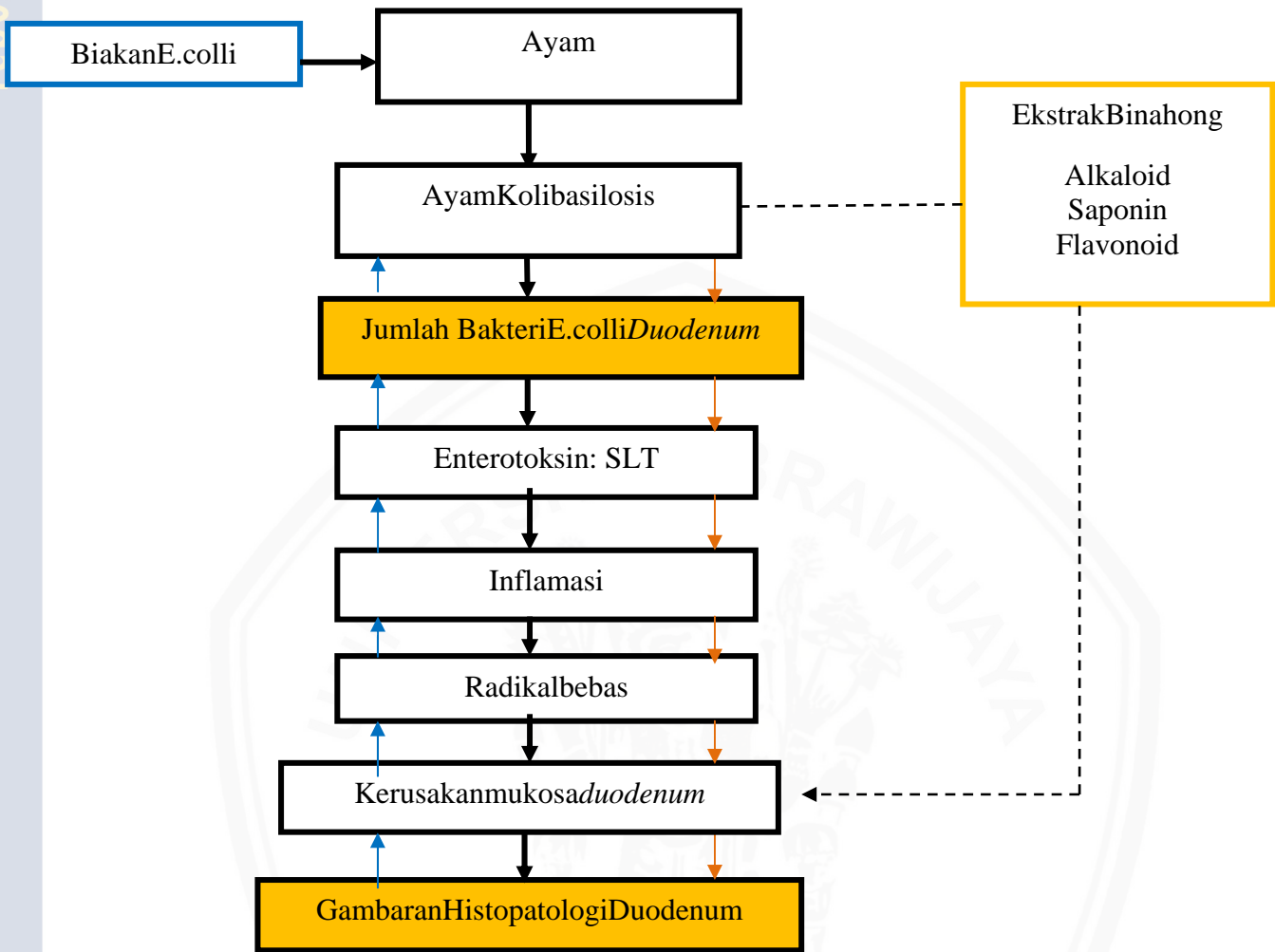
Upaspecies: *G. g. domesticus*

Pemberian bakteri *e.coli* pada ayam bertujuan untuk menstimulasi penyakit collibacilosis. Pada keadaan normal bakteri *e.coli* pada ayam tidak menyebabkan penyakit karena *e.coli* merupakan flora normal. Pada jumlah berlebih bakteri ini dapat menimbulkan infeksi collibacilosis.



**BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1 KerangkaKonseptual**



**Gambar 3.1** Kerangka Konseptual

KeteranganGambar :

- : Perlakuan pemberian biakan *E. coli*
- : Perlakuan pemberian ekstrak binahong
- : Variabel yang diamati
- : Menstimulasi
- : Menghambat
- : Efek pemberian biakan *E. coli*
- : Efek pemberian ekstrak binahong

Pemberian biakan bakteri *E. coli* dilakukan dengan cara pemberian biakan bakteri *E. coli* dilakukan dengan cara oral. Pemberian *E. coli* pada ayam akan menyebabkan jumlah *E. coli* pada *duodenum* akan meningkat. Pada kondisi normal bakteri *E. coli* pada *duodenum* berperan sebagai flora normal pada jumlah yang berlebih bakteri *E. coli* bersifat oportunistik sehingga akan menyebabkan penyakit Kolibasilosis. Mekanisme infeksi *E. coli* di dalam tubuh ayam, yaitu *E. coli* menempel pada sel enterosit melalui pili (fimbriae). *Escherichia coli* kemudian berproliferasi dan berkolonisasi pada mukosa usus sehingga terjadi peningkatan jumlah *E. coli* di dalam *duodenum*.

Pada saat terjadi kolibasilosis bakteri *E. coli* akan menghasilkan toksin yaitu enterotoksin. Enterotoksin yang dihasilkan oleh *E. coli* berupa toksin labil panas (*heat-labile toxins/ LT*) dan toksin stabil panas (*heat-stable toxins/ ST*) (Hughes *et al*, 2009). *Escherichia coli* dapat menghasilkan satu atau dua enterotoksin tergantung pada plasmid (massa DNA ekstrakromosom). Ayam yang terinfeksi bakteri mengandung kedua plasmid biasanya mengalami diare yang lebih berat dan lebih lama. Enterotoksin akan diabsorpsi oleh sel epitel *duodenum* dan dapat merusak motilitas usus sehingga memfasilitasi keberadaan *E. coli* di dalam lumen usus (Salyers and Whitt 1994).

Menurut Ganong (2002), toksin akan berikat dengan reseptor dan masuk ke dalam sel. Toksin stabil bekerja mengaktifkan siklus  $Ca^{2+}$  sehingga menyebabkan akumulasi cairan dan elektrolit di dalam lumen usus serta memblokir absorpsi. Toksin labil akan mengikat ribose adenosin difosfat (ADP) sehingga menghambat kegiatan GTPase (pemecah protein G). Akibatnya, protein G ini meningkat dan merangsang adenil siklase sel epitel yang berkepanjangan sehingga menyebabkan peningkatan jumlah adenil monofosfat (AMP). Peningkatan AMP akan menyebabkan peningkatan sekresi sel-sel kelenjar di dalam usus,

yaitu merangsang sekresi  $\text{Cl}^-$  (hipersekreasi) dengan membuka saluran klorida pada sel kriptad dan menghambat absorpsi  $\text{Na}^+$  dari lumen ke dalam sel epitel usus. Aktifitas dari guanilatsiklase dan pengikatan ribose adenosin di pospat akan merusak sel-sel epitel pada ileum. Kerusakan pada epitel *duodenum* akan mempengaruhi gambaran histopatologi *duodenum*.

Bina Hong adalah tanaman herbal yang mengandung senyawa aktif alkaloid, saponin dan flavonoid. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada *E. coli*, sehingga lapis dinding sel *E. coli* tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian *E. coli* tersebut.

Saponin juga sebagai antibakteri. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel *E. coli* sehingga menyebabkan *E. coli* lisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel *E. coli*, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting di dalam sel *E. coli* yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan *E. coli* pada *duodenum*. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu proses pembentukan protein pada *E. coli*. Senyawa flavonoid bersifat antioksidan. Antioksidan berfungsi untuk menangkap radikal bebas yang diproduksi pada saat kerusakan sel dengan demikian kerusakan sel yang diakibatkan radikal bebas dapat dikurangi.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian terapi ekstrak binahong dapat menurunkan jumlah bakteri *E. coli* pada organ *Duodenum* serta memperbaiki gambaran histopatologi *duodenum* hewan model ayam *collibacillosis*.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan Desember 2014-Februari 2015. Isolat bakteri *E. coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pemeliharaan hewan coba infeksi *E. coli* dan perlakuan pada hewan coba dilakukan di Teaching Farm, Fakultas Peternakan, Universitas Islam Negeri Malang. Penghitungan koloni bakteri *E. coli* dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Fakultas Kedokteran hewan, Universitas Brawijaya. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Rumah Sakit Dr Soetomo, Surabaya. Analisa hasil preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Biokimia, Universitas Brawijaya.

### 4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain : tabung erlenmeyer, kertas saring, *rotary evaporator vakum*, *shaker water bath*, *penyaring buchner*, blender, pipet tetes, cawan petri, cover glass, objek glass, *colony meter*, tabung reaksi, inkubator, ossa ujung lurus, mikroskop Olympus BX51, *autoclave*, bunsen, timbangan digital, kandang ayam sistem baterai, seperangkat alat bedah.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan model ayam broiler (*gallus domesticus*) berumur 14 hari dengan berat badan 900-1000 gram, ekstrak daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, bakteri *E. coli*, *Eosin Methylen Blue Agar* (EMB Agar), aquades, Alkohol 70%, larutan *Paraformaldehyde* (PFA) 4%, larutan PBS, parafin cair, NaCl-fis 0,9 %.

### 4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu :

1. Rancangan penelitian dan persiapan hewan coba
2. Pembuatan ekstrak daun binahong
3. Preparasi ayam kolibasilosis dengan infeksi bakteri *E. coli*
4. Penentuan dosis dan terapi ekstrak daun binahong
5. Penghitungan jumlah bakteri *E. coli* pada *Duodenum* ayam dengan metode *colony counter*
6. Analisa hasil preparat histopatologi *Duodenum* ayam dengan pewarnaan hematoksilin eosin
7. Analisa data

#### 4.4 Prosedur Kerja

##### 4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan *post test control design only*. Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok A sebagai kontrol negatif, kelompok B sebagai kontrol positif, kelompok perlakuan terapi dibagi menjadi kelompok C dengan dosis 800 mg/kg BB, kelompok D dengan dosis 1000 mg/kg BB dan kelompok E dengan dosis 1200 mg/kg BB. Kelompok kontrol negatif merupakan ayam yang hanya diberikan pakan normal dan kontrol positif merupakan ayam diinfeksi *E. coli* tanpa pemberian terapi. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor ayam sebagai ulangan. Rancangan penelitian ditunjukkan dalam Tabel 4.1

**Tabel 4.1.** Rancangan Perlakuan Percobaan

<b>Kelompok Tikus</b>	<b>Perlakuan</b>
A	Ayam kontrol negatif
B	Ayam kontrol positif kolibasilosis
C	Ayam kolibasilosis dan diterapi dengan ekstrak daun binahong 800 mg / kg BB

D	Ayam kolibasilosis dan diterapi dengan ekstrak daun binahong dosis 1000 mg / kg BB
E	Ayam kolibasilosis dan diterapi dengan ekstrak daun binahong dosis 1200 mg / kg BB

Sampel penelitian yang digunakan yaitu hewan coba berupa ayam broiler (*Gallus Domesticus*) strain *Hybro* umur 10 hari dengan berat badan 200-300 gram. Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari (Jenova, 2009). Menurut Jenova (2009) Hewan coba harus dikarantina terlebih dahulu selama 7 – 14 hari. Karantina ini bertujuan untuk mengkondisikan hewan dengan suasana, temperatur dan suhu laboratorium serta untuk menghilangkan stres akibat transportasi. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk 5 kelompok diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

Ayam yang digunakan untuk penelitian diadaptasi terhadap lingkungan laboratorium selama tujuh hari dengan pemberian pakan berupa pakan standar pada semua ayam. Pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Ayam dikandangkan dalam kandang sistem baterai yang berukuran 1.5 m x 1.5 m x 0.75 m (panjang x lebar x tinggi), dengan jumlah ayam 4 ekor tiap kandang disesuaikan dengan jumlah pengulangan setiap perlakuan. Pakan standar yang digunakan adalah pakan pabrikan dengan komposisi pakan standar diketahui melalui analisis proksimat.

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :



- Variabel bebas : Dosis ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan dosis induksi bakteri *E. coli*
- Variabel tergantung : Jumlah bakteri pada *ileum* dan histopatologi *ileum*
- Variabel kontrol : Berat badan, umur dan strain ayam, daun binahong diperoleh dari UPT Meterina Medica Batu.

#### **4.4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong**

##### **4.4.2.1 Pembuatan Simplisia Daun Binahong**

Daun binahong segar sebanyak 5 kg dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Pengeringan dilanjutkan dengan cara menjemur daun binahong didalam ruang tertutup selama 5 hari tidak terkena sinar matahari secara langsung dengan suhu di ruangan 35°-37°C, kemudian dihaluskan menggunakan blender sampai terbentuk serbuk. Serbuk yang didapatkan sebanyak 300 gram. Serbuk daun binahong ini disebut dengan simplisia (Khunaifi, 2010).

##### **4.4.2.2 Ekstraksi Daun Binahong Dengan Metode Maserasi**

Sebanyak 300 gram serbuk daun binahong yang telah dihaluskan dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 300 ml, kemudian digoyang selama satu jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *shaker water bath* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) selama 1 jam. Selanjutnya larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar, setelah 24 jam, larutan difiltrasi atau dipisahkan dengan menggunakan *penyaring Buchner*. Kemudian hasil filtrasi penyaringan di angin-anginkan dan dipekatkan dengan *Rotary vakum evaporator* dengan suhu 50°C sampai didapatkan 184 ml ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk identifikasi golongan senyawa aktif dalam daun binahong dan untuk uji antibakteri (Khunaifi, 2010).



#### 4.4.3 Preparasi Ayam Kolibasilosis Dengan Infeksi Bakteri *E. coli*

Pada umur 18 hari ayam diinfeksi dengan bakteri *E. coli*. Bakteri *E. coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya. Infeksi *E. coli* dilakukan secara oral dengan dosis  $10^8$  CFU yang diberikan sebanyak 1 ml (Wientarsih, *et al.*, 2013). Pemberian infeksi dilakukan sekali tanpa pengulangan. Masa inkubasi bakteri *E. coli* sekitar 2–5 hari (Tarmudji, 2003) dengan gejala klinis ayam depresi, anoreksi, bulu-bulu kasar, sayap menggantung dan teramati kelemahan umum (Wibowo dan Wahyuni 2008). Hewan model yang sudah menunjukkan gejala klinis kolibasilosis diambil fesesnya yang baru keluar untuk kemudian dihitung menggunakan metode *Total plate Count* (TPC). Perhitungan TPC dilakukan untuk menentukan infeksi *E. coli* pada ayam.

#### 4.4.4 Penentuan Dosis dan Terapi Ekstrak Daun Binahong

Penentuan dosis ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada penelitian ini menggunakan 3 dosis yakni dosis 800 mg/kg BB, dosis 1000 mg/kg BB (Khunaifi, 2010) dan 1200 mg/kg BB.

Dosis 800 mg/kg BB digunakan untuk kelompok C, dosis 1000 mg/kg BB digunakan untuk kelompok D dan dosis 1200 mg/kg BB digunakan untuk kelompok E yang diberikan selama 10 hari. Masing-masing kelompok terdapat 4 ekor ayam. Perhitungan dosis ekstrak daun binahong dapat dilihat pada (Lampiran 3).

Metode pemberian ekstrak daun binahong per oral tiap ekor ayam (Wientarsih, *et al.*, 2013). Pemberian ekstrak daun binahong disesuaikan dengan dosis yang ditentukan yaitu Dosis 800 mg/kg BB digunakan untuk kelompok C, dosis 1000 mg/kg BB digunakan untuk kelompok D dan dosis 1200 mg/kg BB digunakan untuk kelompok E. Pemberian ekstrak binahong dilakukan secara oral menggunakan sonde. Masing-masing kelompok terdapat 4 ekor ayam. Hewan model ayam diberi terapi ekstrak daun binahong pada umur 21 hari sampai umur 31 hari.

#### **4.4.5 Penghitungan Jumlah Bakteri *E. coli* Pada *Duodenum* Ayam Dengan Metode *Colony Counter***

Penghitungan jumlah bakteri *E. coli* pada *duodenum* ayam dilakukan setelah pembedahan kemudian diambil organ *duodenum*. Pada mukosa ileum dilakukan swab menggunakan ose ujung lurus dan di strichk pada media EMBA kemudian diinkubasikan pada alat inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Quinn, et al., 2002). Setelah biakan di inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C lalu dilakukan pengamatan biakan bakteri dan dihitung dengan menggunakan *Colony*

*Counter*. Penghitungan *colony counter* bisa dilihat pada (Lampiran 6).

#### **4.4.6 *Euthanasi* Ayam Infeksi *E. coli***

*Euthanasi* dilakukan pada ayam umur 31 hari setelah ayam diinfeksi *E.coli* dan diberi perlakuan terap ekstrak binahong selama 10 hari. *Euthanasi* dilakukan dengan emboli udara ke dalam otak menggunakan alat suntik melalui *foramen magnum*.

#### **4.4.7 Analisis Preparat *Duodenum* dengan Metode Pemanasan Hematoksin Eosin**

Proses pembuatan preparat histopatologi terdiri dari fiksasi, dehidrasi dan infiltrasi, penjernihan, infiltrasi paraffin, *embedding*, *sectioning*, penempelan di gelas objek, dan pewarnaan. Fiksasi dilakukan untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme dan mengeraskan materi yang lunak agar jaringan dapat diwarnai (Junquiera and Carneiro, 2007). Fiksasi dilakukan dengan cara jaringan dimasukkan ke dalam larutan PFA 4%.

Dehidrasi dilakukan menggunakan larutan alkohol secara bertingkat dari konsentrasi 10% sampai dengan absolut selama 30 menit. Proses dehidrasi berjalan pada suhu 4°C. Setelah itu dilakukan penjernihan, dengan cara memasukkan jaringan ke larutan penjernih yaitu xylol I dan xylol II masing-masing 1 jam. Penjernihan dilakukan untuk mengeluarkan alkohol dari

jaringan agar dapat berikatan dengan parafin. Tahap selanjutnya adalah proses infiltrasi yang dilakukan dalam parafin cair yang ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60°C (Jusuf, 2009).

*Embedding* dilakukan dengan cetakan yang didalamnya diisi parafin cair. *Embedding* adalah proses untuk mengeluarkan cairan penjernih dari jaringan dan diganti dengan parafin. Setelah membeku, cetakan tersebut di potong dan ditempelkan pada blok kayu. Blok tersebut dipasang pada mikrotom dan diatur agar posisinya sejajar dengan posisi pisau. Blok parafin dipotong dengan ketebalan 4-5 mikron dan dilekatkan pada gelas objek. Proses ini disebut *sectioning*. Setelah itu, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 38-40 °C selama lebih kurang 24 jam untuk penguapan parafin lalu siap diwarnai dengan pewarnaan hematoxilin-eosin (HE) (Jusuf, 2009).

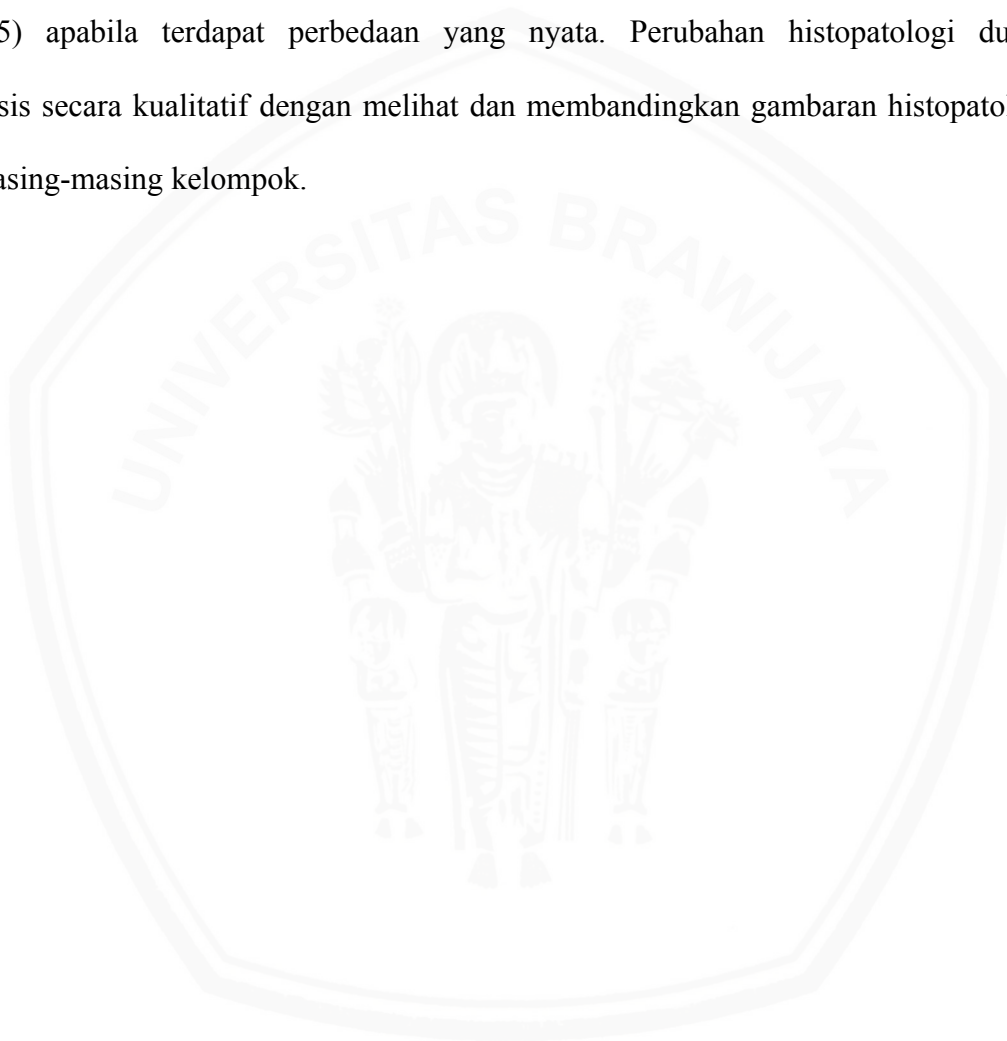
Proses berikutnya adalah pewarnaan. Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) dilakukan untuk melihat morfologi jaringan hati. Pewarnaan diawali dengan deparafinasi dengan menggunakan xylol dan rehidrasi dengan menggunakan alkohol 95%, 90%, 80% dan 70% secara berurutan masing-masing selama 5 menit. Sediaan dicuci dengan air mengalir selama 10 menit dan dilanjutkan dengan air aquades selama 5 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna Hematoksilin selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 menit dan air aquades selama 5 menit. Setelah itu sediaan diwarnai dengan pewarna Eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 10 menit dan air aquades selama 5 menit. Setelah sediaan diwarnai, dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama 5 menit dan dilanjutkan dengan alkohol absolut I, II dan III masing-masing 5 menit. Setelah itu dilakukan proses *Clearing* dengan xilol I dan II selama 5 menit, preparat dikering anginkan dan ditutup dengan gelas penutup.

Pengamatan preparat histopatologi organ hati dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51 perbesaran 100 kali dilanjutkan perbesaran 400 kali. Bagian yang diamati

adalah adanya degenerasi lemak. Keadaan hiperkolesterolemia dapat menunjukkan adanya beberapa sel hati yang mengalami degenerasi sampai dengan nekrosis (Wresdiyati *et al.*, 2006).

#### **4.4.8 Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran jumlah bakteri *E.colli* pada duodenum dianalisis dengan analisa ANOVA dan dilakukan analisis lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil ( $\alpha=0,05$ ) apabila terdapat perbedaan yang nyata. Perubahan histopatologi duodenum dianalisis secara kualitatif dengan melihat dan membandingkan gambaran histopatologi hati dari masing-masing kelompok.



## BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Terapi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Jumlah Bakteri *E. coli* Organ *Duodenum* Ayam *Broiler*

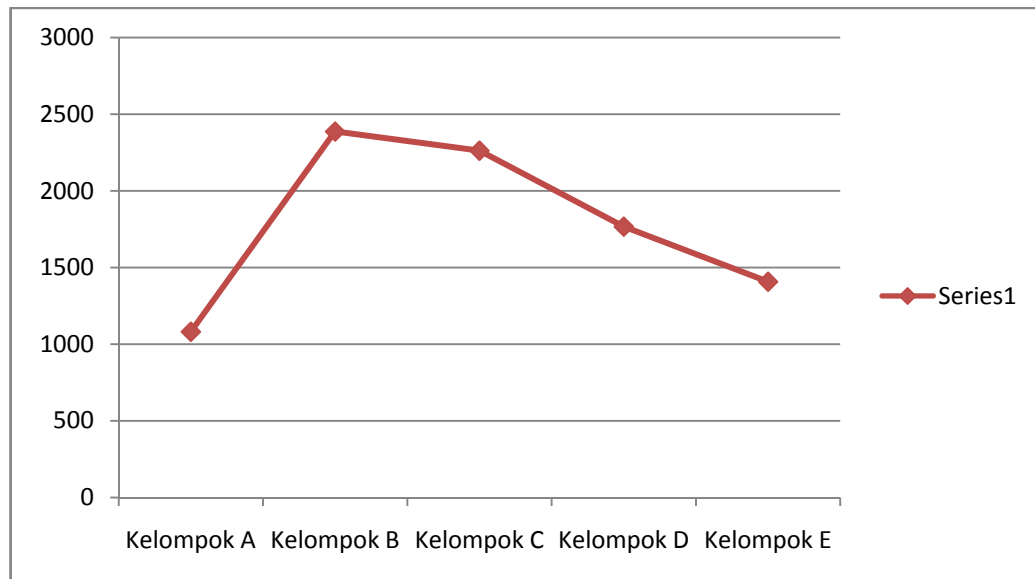
Hasil uji statistik pemberian ekstrak daun binahong terhadap jumlah *E. coli* organ *duodenum* ayam menggunakan uji *one way analysis of varian* (ANOVA) dan uji lanjutan menggunakan uji *Tukey* ( $p < 0,05$ ) menunjukkan perbedaan signifikan yang secara lengkap dijelaskan pada Lampiran 11.

**Tabel 5.1.** Jumlah Rata-rata *E. coli* pada Organ *Duodenum*

Perlakuan	Rata-rata <i>E. coli</i> (CFU per g/ml)	Peningkatan (%)	Penurunan (%)
Ayam kontrol negatif (A)	1080,81 ± 4,61 <sup>a</sup>	-	-
Ayam kontrol positif (B)	2387,26 ± 69,89 <sup>d</sup>	120,9	-
Ayam diinfeksi <i>E. coli</i> + terapi 800 mg/kg BB (C)	2262,29 ± 56,01 <sup>d</sup>	-	5,2
Ayam diinfeksi <i>E. coli</i> + terapi 1000 mg/kg BB (D)	1766,85 ± 41,53 <sup>c</sup>	-	25,9
Ayam diinfeksi <i>E. coli</i> + terapi 1200 mg/kg BB (E)	1407,39 ± 80,53 <sup>b</sup>	-	41

Keterangan : Perbedaan notasi a, b, c dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok perlakuan.

**Tabel 5.2** Grafik rata-rata jumlah *E. coli* pada Organ *Duodenum*



Hasil perhitungan jumlah *E. coli* pada organ *duodenum* ayam *broiler* menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Pada **Tabel 5.1** diketahui kelompok kontrol negatif (A) memiliki rata-rata jumlah *E. coli* terendah sedangkan kelompok kontrol positif (B) memiliki jumlah rata-rata jumlah bakteri paling tinggi. Kelompok C, D dan E merupakan kelompok perlakuan pemberian terapi ekstrak daun binahong. Penurunan jumlah *E. coli* yang signifikan pada kelompok D dan E diduga karena adanya senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun binahong yaitu flavanoid, alkaloid dan saponin.

Mekanisme kerja saponin dalam membunuh bakteri dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran sel bakteri. Membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan aktif dan mengendalikan susunan dalam diri sel. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas

membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rachmawati, 2009)

Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al*, 2008). Selain itu, menurut Setiaji (2009) menyatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan 9 genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri.

Penurunan tertinggi terdapat pada kelompok E karena dosisnya yang paling besar sehingga senyawa kimia yang terkandung juga lebih tinggi dan dalam penelitian ini pemberian dosis 1200 mg/kg BB tidak menimbulkan abnormalitas. Hal ini sesuai dengan Darsana dkk (2012) yang telah melakukan penelitian tentang potensi daun binahong dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro* didapatkan hasil bahwa meningkatnya konsentrasi perasan daun binahong meningkatkan daya hambat terhadap pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Salasanti (2009) juga didapatkan hasil yaitu pemberian ekstrak etanol daun binahong hingga dosis 1500 mg/kg bb tidak menimbulkan kematian dan perubahan perilaku, tidak ada perbedaan bermakna berat badan, urin, indeks organ, hematologi, dan biokimia darah pada tikus yang diberi ekstrak etanol daun binahong dibandingkan dengan kontrol ( $p > 0,05$ )



sedangkan pada pengamatan histologi organ jantung, paru, hati, ginjal, dan limpa tidak menunjukkan adanya perbedaan dengan kontrol. Patogenesis yang sering timbul dari efek toksik tanaman herbal adalah terjadinya iritasi pada mukosa dan pada sel epitel usus halus terdapat sel Goblet atau sel mangkok yang menghasilkan mucus yang berfungsi untuk melindungi mukosa (Wiadnyana dkk., 2015).

## **5.2 Pengaruh Pemberian Terapi Esktrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)Steenis) Terhadap Gambaran Histopatologi Organ *Duodenum* Ayam *Broiler* Kolibasilosis**

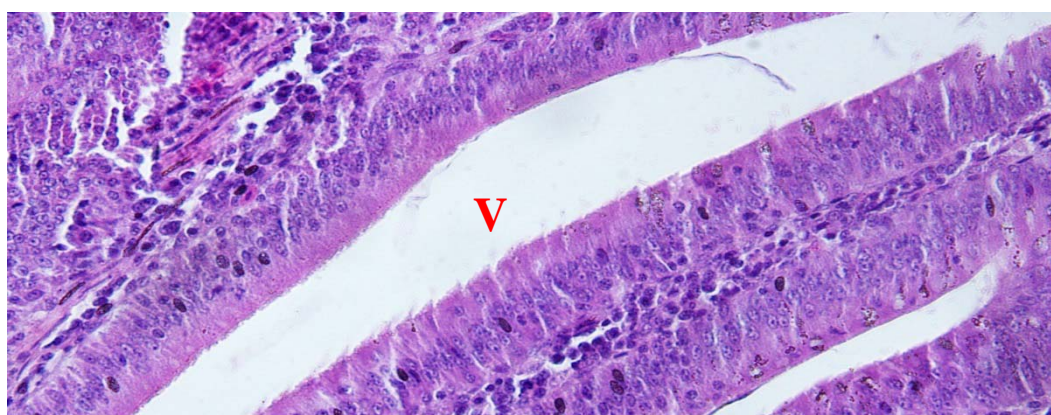
Gambaran histopatologi organ *duodenum* pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada keadaan kolibasilosis terjadi perubahan pada *duodenum* karena merupakan salah satu predileksi dari *E. coli*. Usus halus mempunyai dua fungsi utama yaitu pencernaan dan absorpsi bahan – bahan nutrisi, air, elektrolit dan mineral. Menurut Brito *et al* (2003) sebagai flora normal yang berpredileksi di usus halus fungsi *E. coli* adalah membantu dalam proses pencernaan termasuk fermentasi sisa-sisa makanan dalam usus besar, *E. coli* membantu memproduksi vitamin K melalui proses fermentasi sisa makanan dan *E. coli* juga menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang patogenik.

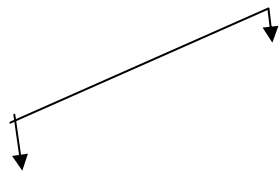
Mekanisme *E. coli* masuk dalam tubuh ayam yaitu dengan menempel pada sel enterosit yang banyak terdapat didalam usus halus melalui pili (fimbriae). Antigen O dan K membantu *E. coli* untuk menghindari proses fagositosis dari inang, sehingga *E. coli* dapat berkolonisasi dan berpoliferasi (Mellata, et al.,



2001). *Escherichia coli* akan berkolonisasi dan bermultiplikasi secara menerus, kemudian menginvasi sel-sel atau jaringan dan memproduksi toksin yang dapat menyebabkan radang atau kerusakan pada organ (Dho-moulin, 2000). Kemampuan *E. coli* berkolonisasi adalah berkat adanya pili tipe P. Pili tipe P bertanggung jawab atas kolonisasi pada organ internal. Pili tipe P dianggap berperan penting dalam infeksi sistemik (Knobl *et al.* 2006). Toksin yang dihasilkan *E. coli* adalah *heat labile toxin* (LT) dan atau *heat stabile toxin* (ST) Sommer *et al.*, (1994). Gen-gen tersebut bisa terdapat pada plasmid-plasmid yang sama atau terpisah. Toksin LT bekerja merangsang enzim adenil siklase yang terdapat didalam sel epitel mukosa usus halus menyebabkan peningkatan aktivitas enzim tersebut dan terjadinya peningkatan permeabilitas sel epitel usus, sehingga terjadi akumulasi cairan dalam usus dan berakhir dengan diare. *Stabil toxin* enterotoksin merupakan toksin yang berasal dari kelompok peptida dengan berat molekul sekitar 2000 Dalton, berat molekul yang kecil ini menyebabkan peningkatan siklus GMP pada sitoplasma sel. Hal ini menyebabkan dinding usus mengalami kerusakan dan mengganggu absorpsi sehingga terjadi diare (Todar, 2002).

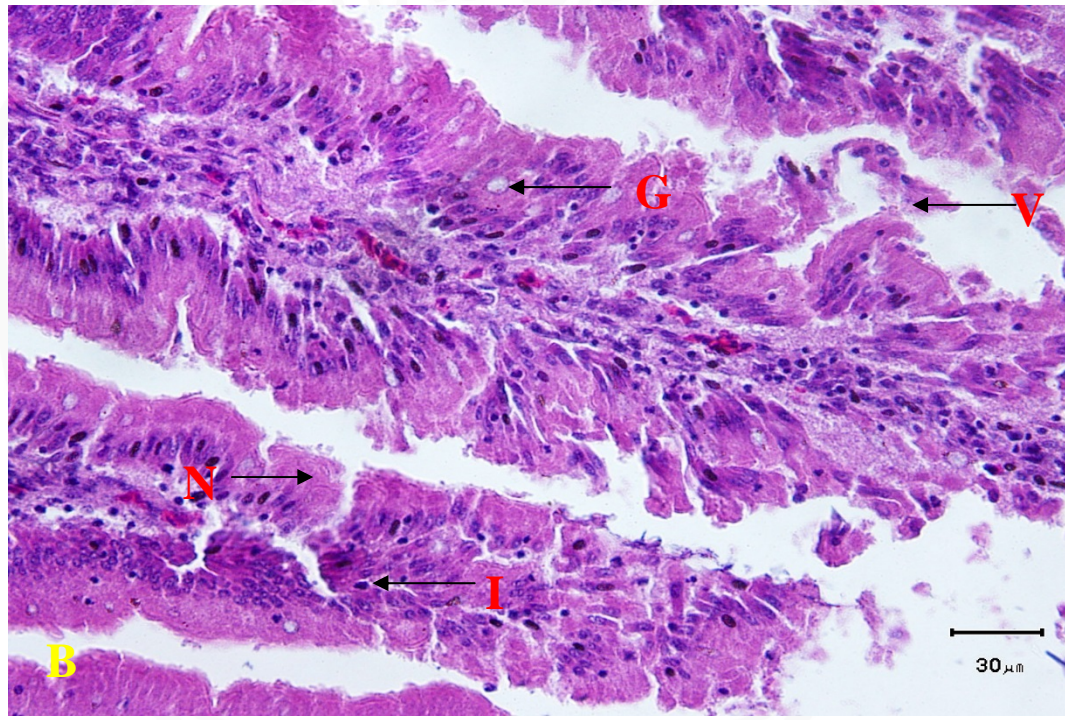
Perubahan histopatologi yang terjadi bisa diamati berupa perubahan struktur dan adanya edema vili, infiltrasi sel-sel inflamasi dan adanya sel nekrosis. Hasil pengamatan preparat duodenum ayam pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada **Gambar 5.1** berikut ini :



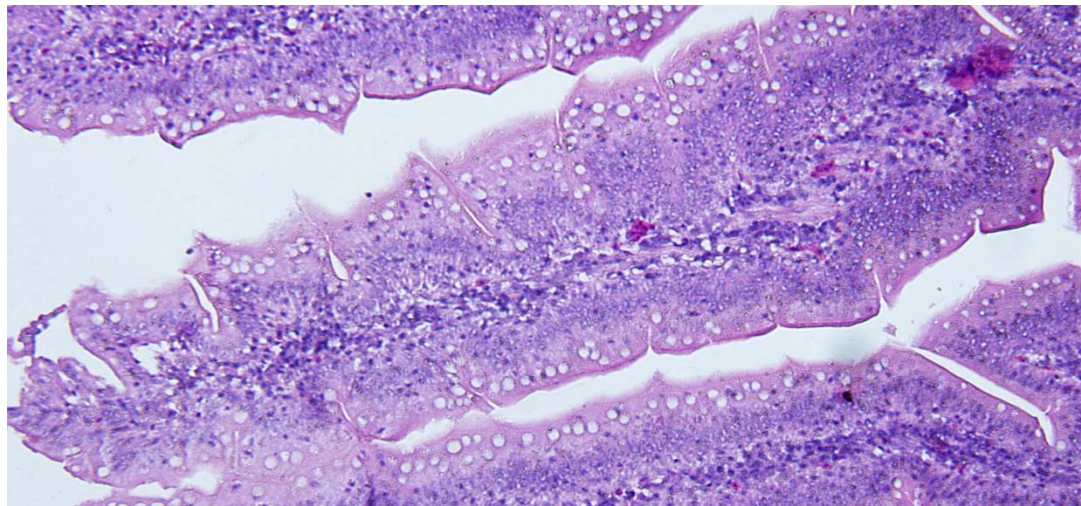


A

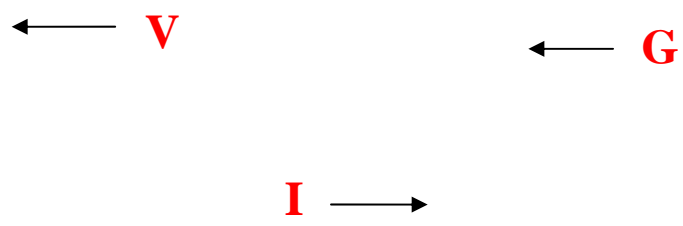
**Gambar 5.1.A.** Gambaran histologilapisan mukosa organ *Duodenum* ayam kontrol negatif (HE, 400x). Susunan vilinormal, rapat dan teratur (**V**)



**Gambar 5.1.B.** Gambaran histopatologi lapisan mukosa organ *Duodenum* ayam kontrol positif (HE, 400x). Terdapat sel nekrosis (**N**), terdapat kerusakan vili (**V**), peningkatan jumlah sel-sel goblet yang mengeluarkan *mucus* (**G**), dan infiltrasi sel-sel inflamasi (**I**) yang menjadi ciri dari inflamasi.

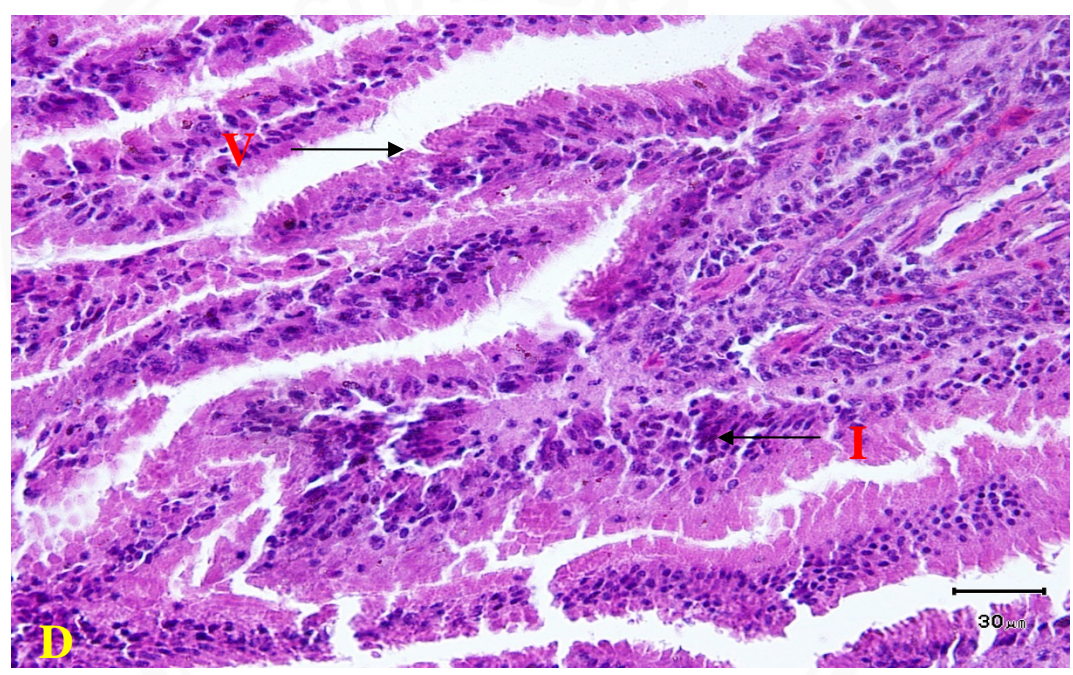






C

**Gambar 5.1.C.** Gambaran histopatologi lapisan mukosa organ *Duodenum* ayam dosis terapi 800 mg/kg BB (HE, 400x). terdapat sedikit kerusakan vili (V), terdapat sel-sel goblet yang mengeluarkan *mucus* (G), dan infiltrasi sel-sel inflamasi (I) yang menjadi ciri dari inflamasi.



**Gambar 5.1.D.** Gambaran histopatologi lapisan mukosa organ *Duodenum* ayam dosis terapi 1000 mg/kg BB (HE, 400x). Vili terlihat normal, tampak penurunan aktifitas sel-sel goblet dalam mengeluarkan *mucus*, dan masih terdapat sel-sel inflamasi (I).



I →

E

**Gambar 5.1.E.** Gambaran histopatologi lapisan mukosa organ *Duodenum* ayam dosis terapi 1200 mg/kg BB (HE, 400x) Vili terlihat normal (V), tidak di temukan sel goblet yang mengeluarkan *mucus*, namun masih terdapat sel-sel inflamasi (I).

Preparat organ *duodenum* dengan pewarnaan HE pada **Gambar 5.1** menunjukkan perbandingan kondisi kelompok ayam kontrol negatif (ayam sehat), kelompok ayam kontrol positif (ayam kolibasilosis) dan kelompok ayam kolibasilosis yang diberi terapi ekstrak daun binahong dengan dosis 800 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB. Dari **Gambar 5.1.A** menunjukkan histologi *duodenum* ayam dalam keadaan normal. Terlihat bentuk vili-vili usus yang tersusun rapih, rapat, dan teratur. Hal ini sesuai dengan penelitian Zalizar (2006) bahwa *duodenum* ayam normal memiliki susunan epitel yang rapat dan teratur. Didukung oleh penelitian Tiuria *et al* (2000) mengatakan bahwa pada *duodenum* normal dapat terlihat mukosa dengan vili yang panjang, sel-sel epitel kolumnar dengan sel goblet, lapisan submukosa, lapisan muskularis mukosa, lapisan muskular dan lapisan serosa. Secara normal saluran pencernaan terdiri dari beberapa lapisan, yakni mukosa, submukosa, dan muskularis (Dellman and Eurell, 1998). Histologi pada kelompok ini dapat dijadikan patokan adanya perubahan dan kerusakan yang terjadi pada kelompok lainnya.

Pada kelompok kolibasilosis (**Gambar 5.1.B**) menunjukkan adanya sel nekrosis dan kerusakan vili karena terjadinya inflamasi. Nekrosis merupakan

kematian sel atau jaringan saat individu masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan intinya yaitu hilangnya gambaran khromatin, inti menjadi kript, tidak vasikuler lagi, inti tampak lebih padat, warnanya gelap (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis), inti tidak lagi mengambil warna banyak karena itu pucat/sel mengalami lisis (kariolisis) (Himawan, 1992). Piknosis ditandai dengan inti sel menyusut hingga mengkerut, menunjukkan penggumpalan, densitas kromatinnya meningkat, memiliki batas yang tidak teratur, dan berwarna gelap. Karioreksis ditandai dengan membran nukleus robek, inti sel hancur sehingga terjadi pemisahan kromatin dan membentuk fragmen-fragmen dan menyebabkan materi kromatin tersebar dalam sel. Kariolisis ditandai dengan inti sel tercerna sehingga tidak dapat diwarnai lagi dan benar-benar hilang (Kiernan, 2001).

Enterotoksin yang dihasilkan *E. coli* menyebabkan terjadinya inflamasi pada sel. Proses inflamasi terjadi sebagai respon tubuh terhadap enterotoksin *E. coli*. Terjadinya proses inflamasi ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel inflamasi seperti neutrofil, basofil dan eosinofil. Mitchell & Cotran (2003) berpendapat bahwa inflamasi pada duodenum ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel inflamasi seperti neutrofil, basofil dan eosinofil, serta kerusakan vili dan epitel. Pada pengamatan histopatologi kelompok ayam positif (**Gambar 5.1.B**) terlihat adanya infiltrasi sel-sel inflamasi yang menjadi indikator penting yang menyatakan terjadinya inflamasi. Pada keadaan inflamasi akan menyebabkan permeabilitas pembuluh darah yang menyebabkan protein, eritrosit dan leukosit keluar dari pembuluh darah dan masuk ke jaringan. Fungsi leukosit dan sel inflamasi lainnya adalah untuk memfagosit dan mendegradasi agen yang



menyerang seperti bakteri dan mikroba lain, bahan yang merusak seperti indometasin, sel dan jaringan nekrotik serta antigen asing (Mac Farlane *et al.* 2000). Didukung oleh pernyataan Mansjoer (2003) bahwa sel-sel radang yang mula-mula keluar dari dinding pembuluh darah dalam keadaan inflamasi adalah netrofil. Neutrofil merupakan salah satu sel inflamasi yang paling sering ditemui dalam keadaan inflamasi karena banyak sel-sel yang mengalami nekrosis sehingga menarik netrofil untuk datang dan memfagosit sel-sel rusak. (Stephenson, 1992).

Peningkatan jumlah sel-sel goblet juga terlihat pada **Gambar 5.1.B**. Peningkatan aktifitas sel goblet terjadi karena jumlah *E. coli* yang meningkat menstimulasi sel goblet untuk mengeluarkan sekret *mucus* yang bersifat antibakteri. Fungsi yang paling penting dari sel goblet adalah untuk mengeluarkan lendir yang merupakan cairan kental dan terdiri dari mucin protein glikosilasi yang tersuspensi dalam larutan elektrolit. Fungsi utama dari lendir yang dihasilkan sel goblet untuk melindungi terhadap stres dan kerusakan kimia, menjebak serta menghilangkan mikroorganisme dan partikel (Deplancke and Gaskins, 2001). Miller *et al* (1979) juga menjelaskan *mucus* didalam sel goblet bekerja terhadap bakteri dengan cara mencerna bakteri kemudian menghilangkan komponen polisakarida yang terdapat pada dinding bakteri tersebut karena polisakarida yang terdapat pada dinding sel tadi hilang, menyebabkan dinding sel dapat pecah karena tingginya tekanan osmotik didalam sel. Pada sel goblet yang tidak memiliki sekret akan berubah menjadi warna putih karena Ph sel goblet menjadi normal sehingga tidak terwarnai oleh zat pewarna. Menurut pendapat Retnani (2005) bahwa senyawa hematoksilin yang bersifat basa bereaksi dengan

senyawa asam (basofilik) dalam inti sel sehingga menyebabkan warna ungu/biru. Hal serupa terjadi dengan pewarnaan eosin, dimana reaksi eosin dengan senyawa basa menyebabkan sitoplasma berwarna merah muda.

Inflamasi merupakan salah satu respon imun tubuh akan tetapi juga memiliki dampak negatif berupa pembentukan radikal bebas. Proses fagositosis yang terjadi akibat teraktivasinya makrofag dapat menyebabkan diproduksi radikal bebas. Pada dasarnya komponen tersebut membantu dalam proses pemulihan jaringan yang rusak, namun ketika radikal bebas yang diproduksi terlalu tinggi, maka radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan mukosa dan jaringan (Abbas *et al.*, 2003). Radikal bebas adalah suatu senyawa/ molekul yang mengandung 1 atau lebih elektron tidak berpasangan pada molekul luarnya. Menurut Mates *et al.*, (1999) radikal bebas yang beredar akan mencuri elektron pada molekul lainnya sehingga dapat merusak sel, karena sel menjadi tidak stabil. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang apa saja terutama yang rentan seperti lipid, protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Kumalaningsih, 2007).

Perbaikan gambaran histopatologi *duodenum* ditunjukkan pada kelompok terapi dosis 800 mg/kg BB (**Gambar 5.1.C**), kelompok terapi dosis 1000 mg/kg BB (**Gambar 5.1.D**) dan kelompok terapi dosis 1200 mg/kg BB (**Gambar 5.1.E**). Pada **Gambar 5.1.C** masih belum menunjukkan adanya perbedaan histopatologi dengan kelompok kontrol positif. Terdapat sedikit kerusakan vili, masih tampak adanya sel nekrosis, infiltrasi sel-sel inflamasi dan banyak sel-sel goblet yang mengeluarkan *mucus*. Pada **Gambar 5.1.D** mulai terlihat adanya perbedaan gambaran histopatologi dengan kelompok kontrol positif. Pada kelompok terapi



1200 mg/kg BB, Vili terlihat normal, masih adanya sedikit infiltrasi sel-sel inflamasi,serta tidak di temukanya sel goblet. Pada **Gambar 5.1.E** yaitu kelompok terapi dengan dosis tertinggi gambaran histopatologi *duodenum* semakin mendekati gambaran histopatologi *duodenum* normal meski masih nampak adanya sel-sel inflamasi

Pada kelompok terapi ekstrak daun binahong mampu mengurangi dampak kerusakan akibat infeksi *E. coli* karena pada ekstrak daun binahong terdapat senyawa aktif berupa alkaloid dan saponin yang bersifat antibakteri serta flavanoid yang bersifat antioksidan. Flavanoid sendiri selain bersifat antibakteri juga bersifat antioksidan. Ling *et al.*, (2002) menambahkan bahwa senyawa-senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Flavanoid adalah antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Mekanisme kerja flavanoid menyebabkan ROS tidak mengikat PUFA yang merupakan penyusun dari membran sel, sehingga terjadi penurunan angka peroksidasi lipid. Penurunan tingkat peroksidasi lipid pada sel mengakibatkan tidak terjadinya inflamasi, yang tampak sebagai perbaikan pada histopatologi *duodenum* seperti berkurangnya jumlah sel radang dan regenerasi sel epitel sehingga vili terlihat kembali merapat (Ancoferiawan, 2012).

Hasil penelitian Tanaka *et al.*, (2013) menjelaskan terjadinya perbaikan kondisi inflamasi pada gambaran histopatologi *duodenum* merupakan efek dari mekanisme kerja flavanoid yang menghambat aktivasi sel T *helper* (Th1). Hambatan terhadap sel Th1 mengakibatkan TNF- $\alpha$ , interleukin 12 (IL-12) dan interferon  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) tidak teraktivasi. Inaktivasi dari TNF- $\alpha$  menyebabkan

penurunan keberadaan neutrofil. Inaktivasi dari IL-12 menyebabkan tidak teraktifasinya sel T sitotoksik (Tc) sehingga tidak memproduksi perforin, yaitu substansi yang dapat merusak membran sel. Inaktivasi IFN  $\gamma$  menyebabkan tidak munculnya sel B sehingga tidak menghasilkan sel mast. Menurut Zhang (2005) inaktivasi dari neutrofil, sel Tc dan sel mast menyebabkan terjadinya perbaikan gambaran histopatologi *duodenum* yang ditandai dengan regenerasi sel epitel sehingga jarak vili terlihat kembali rapat dan penurunan keberadaan sel radang.



## BAB VI PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

1. Dari penelitian ini disimpulkan pemberian terapi ekstrak daun binahong menurunkan jumlah *E. coli* pada organ *duodenum* ayam broiler.
2. Dari penelitian ini disimpulkan pemberian terapi ekstrak daun binahong menurunkan kerusakan jaringan pada organ *duodenum* ayam broiler.

### 6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimum pemberian ekstrak daun binahong hingga ditemukan dosis yang memberikan hasil yang tidak berbeda dengan ayam sehat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang mekanisme pengaplikasian ekstrak daun binahong dalam dunia peternakan.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping dan dosis toksisitas dari pemberian terapi ekstrak daun binahong metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).