

ELSA ROSITA 16820043

by Yos Adi Prakoso

Submission date: 30-Jul-2020 05:31AM (UTC+0300)

Submission ID: 1363838587

File name: ELSA_ROSITA_16820043.docx (280.56K)

Word count: 4775

Character count: 30382

**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI NANO SILVER PADA BAKTERI
Escherichia coli YANG DIISOLASI DARI
SUSU SAPI MASTITIS**

Elsa Rosita

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas antibakteri nano silver pada bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari susu sapi mastitis. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 5 kali ulangan, pada P0 sebagai kontrol negatif menggunakan Aquades, kelompok P0 sebagai kontrol positif dengan perlakuan Amoxicillin, P1 sebagai perlakuan dengan larutan nano silver konsentrasi 50 ppm, P2 sebagai perlakuan dengan larutan nano silver konsentrasi 100 ppm dan P3 sebagai perlakuan dengan larutan nano silver dengan konsentrasi 150 ppm. Penelitian ini mengamati zona hambat pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) yang sudah di tanami bakteri murni *Escherichia coli*. Data yang diperoleh di analisis menggunakan ANOVA yang menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan karena ($P=0,000$) sehingga terdapat perbedaan yang nyata.

Kata kunci : Nano Silver, Aquades, Amoxicillin, *Escherichia coli*

EFFECTIVENESS OF NANO SILVER ANTIBACTERIA IN *Escherichia coli* BACTERIA ISOLATED FROM MASTITIC COW MILK

Elsa Rosita

10

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effect of nano silver antibacterial properties on *Escherichia coli* bacteria isolated from mastitis cow's milk. This study used 5 treatments with 5 replications, in P0 as a negative control using Aquades, P0 group as a positive control with *Amoxicillin* treatment, P1 as a treatment with nano silver concentration of 50 ppm, P2 as a treatment with nano silver solution concentration of 100 ppm and P3 as a treatment with nano silver solution with a concentration of 150 ppm. This study looked at inhibition zones on MHA (*Muller Hinton Agar*) media that had been planted with pure *Escherichia coli* bacteria. The data obtained were analyzed using ANOVA which showed a very significant difference because ($P = 0,000$) so that there were significant differences.

29

Keywords : Nano Silver, Aquades, *Amoxicillin*, *Escherichia coli*

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

4

Paradangan pada ambing yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang besar kasus pada peternakan sapi perah akibat kualitas susu yang buruk, penurunan produksi susu, peningkatan biaya obat dan pelayanan dokter hewan merupakan penyakit yang disebut mastitis. Mastitis Subklinis dan mastitis klinis merupakan manifestasi pada sapi perah. Awal mula penyebab mastitis terjadi pada masa laktasi. Penurunan produksi susu dan penurunan kualitas susu terjadi karena jenis mastitis subklinis dan mastitis klinis. Penurunan fungsi ambing, pembengkakan ambing, pengerasan ambing, rasa sakit merupakan gejala klinis dari mastitis klinis dan subklinis. Susu dari sapi mastitis menyebabkan perubahan fisik, kimiawi, patologis dan bakteriologis, jaringan kelenjar ambing (Nurhayati dkk., 2015).

penyebab mastitis berasal dari lingkungan gram negative yaitu *Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Klebsiella spp* seperti *S. dysgalactiae* dan *S. uberis*. agen patogen normal terdapat pada feses, alas tidur dan pakan. *Escherichia coli* merupakan agen patogen berasal dari lingkungan pada tangan pemerah dan ambing sapi. Ketika sapi mengalami kontak dengan sumber lingkungan penularan yang terkontaminasi bakteri akan masuk ke dalam kelenjar susu (Nurhayati, dkk., 2015)

upaya pencegahan adanya mastitis dengan melakukan penggunaan obat-obatan terutama antibiotik dianggap mudah dan cepat. Akan tetapi diketahui penggunaan ⁴ antibiotik yang tidak tepat pada sapi perah menyebabkan residu dalam susu yang dikonsumsi manusia, dan terjadi resistensi antibiotik yang menurunkan kualitas produk olahan susu (Marsianto dkk., 2013)

Senyawa asal hewan dan metabolit yang ada dalam jaringan produk hewan adalah residu antibiotik. Residu mengakibatkan terancamnya kesehatan masyarakat dimana terjadi resisten bakteri alergi pakan juga keracunan. Residu antibiotik di produk pangan asal hewan terjadi dikarenakan penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Untuk pemacu pertumbuhan ternak dan pengobatan masyarakat saat ini menggunakan antibiotik. Apabila penggunaan antibiotik ²⁴ yang tidak memperhatikan masa henti obat menyebabkan residu antibiotik produk pangan asal hewan (Dewi dkk., 2014)

Pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal menyebabkan resistensi dimana tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri karena pemakaian antibiotik yang tidak sesuai aturan. Ketika bakteri berubah menyebabkan hilangnya efek ² obat, senyawa kimia atau bahan yang digunakan untuk mencegah. Apabila bakteri mampu bertahan hidup dan memperbanyak diri menimbulkan lebih banyak bahaya (Utami dkk., 2011). Pemakaian antibiotik yang kurang tepat menyebabkan residu pada susu konsumsi, resistensi

antibiotik, mengakibatkan alergi dan menurunkan kualitas produk susu. Pemeriksaan mastitis menggunakan antibiotik secara luas mengakibatkan resistensi bakteri pada antibiotik tertentu (Zalazar dkk., 2018).

Perlakuan yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya residu dan resisten antibiotik salah satunya adalah penggunaan antibakteri nano silver. Perak merupakan salah satu Non – beracun yang aman untuk tubuh dan membunuh banyak mikroorganisme berbahaya (Dehkordi dkk., 2011). Perak dan senyawanya merupakan agen antimikroba efektif. Eksperimen pada nano partikel telah banyak diakui sebagai agen antimikroba. partikel nano diartikan sebagai material ukuran panjang, partikel primernya kurang dari 100nm. Partikel nano logam mulia adalah partikel nano perak, dapat diaplikasikan pada diagnosa molekuler dan alat fotonik dengan kemampuan sifat optis partikel-nano, selain itu partikel nano perak juga digunakan sebagai bahan pelapis antimikroba. Partikel nano logam memiliki aktivitas antimikroba serta dapat berikatan pada molekul protein pada sel mikroba dan mengganggu kerja metabolisme mikroba serta dapat mematikan mikroba. Nano silver merupakan logam yang paling banyak dipakai dikarenakan sifatnya tidak toksik jika digunakan pada kulit manusia (Wahyudi dkk., 2011)

Bedasarkan latar belakang maka, dilakukan penelitian terhadap efektivitas antibakteri nano silver ³ pada bakteri *escherichia coli* yang diisolasi dari susu sapi mastitis dilakukan secara in vitro, yang diamati adalah pengujian efektivitas penghambat pertumbuhan *escherichia coli* meliputi pengukuran diameter zona hambat.

² 1.2 Rumusan Masalah

berdasar uraian diatas, rumusan masalah dalam eksperimen ini adalah :

bagaimana efektivitas antibakteri nano silver pada *escherichia coli* diisolasi dari susu sapi mastitis ?

²⁶ 1.3 Tujuan Mastitis

tujuan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri nano silver ³ pada bakteri *escherichia coli* yang diisolasi dari susu sapi mastitis.

¹⁰ 1.4 Manfaat Penelitian

manfaat penelitian ini adalah agar peternak dapat menjadikan antibakteri nano silver sebagai pengganti antibiotik, selain peternak nano silver juga dapat dikonsumsi manusia sebagai minum kesehatan. Selain itu dokter hewan dapat mengurangi penggunaan jumlah antibiotik agar tidak terjadi residu maupun resisten pada hewan ternak.

1.5 Hipotesa

H₀ : tidak terdapat efektivitas antibakteri nano silver³ pada bakteri
escherichia coli yang diisolasi dari susu sapi mastitis

H₁ : terdapat efektivitas antibakteri nano silver³ pada bakteri
escherichia coli yang diisolasi dari susu sapi mastitis

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mastitis

2.1.1 Definisi Mastitis

Istilah mastitis diambil dari kata *matos* yang berasal dari bahasa Yunani yang artinya infeksi. Mastitis terjadi karena adanya peradangan yang disebabkan oleh mikroorganisme yang menyebabkan luka pada puting dan jaringan ambing sehingga menimbulkan kontaminasi. Namun demikian mastitis memiliki dua jenis yaitu subklinis serta klinis yang dapat memicu turunnya produksi dan kualitas susu. Susu yang diperoleh dari sapi penderita mastitis dapat berubah secara fisika, kimiawi, bakteriologis, serta patologisnya dan jaringan kelenjar ambingnya (Azis dkk., 2013).

Mastitis dipecah menjadi dua tipe, subklinis dan klinis. Mastitis klinis dicirikan pada sapi terlihat adanya penggumpalan pada susu, puting mengalami pembengkakan, saat pemerahan susu terasa panas dan sensitive apabila disentuh. Penyebab mastitis subklinis ialah mikroorganisme patogen yang meliputi ²¹ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, dan *Corynebacterium bovis*. Bakter-bakteri ini memicu rusaknya sel-sel alveoli didalam ambing. Sehingga mengakibatkan turunnya produksi susu serta kualitas susu (Azis dkk., 2013).

2.1.2 Etiologi

Beberapa jenis bakteri penyebab mastitis meliputi : *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus uberis*, ⁸ *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactiae*, *Streptococcus zoopidemicus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter*

aerogenes, dan *Escherichia coli*, dalam keadaan tertentu dijumpai pula penyebab mastitis oleh *Mycoplasma sp*, *Nocardia asteroides*, dan juga yeast (*Candida sp*) (Direktorat Kesehatan Hewan, 2014).

2.1.3 Gejala Klinis

Pada sapi penderita mastitis terlihat gejala klinisnya antaranya yaitu adanya kebengkakan pada puting serta ambing yang timbul pada sebagian atau lebih. Sapi mengalami kesakitan saat proses pemerahan lalu turunnya produksi susu yang bermacam. Susu dapat berubah menjadi warna merah akibat infeksi bakteri. Mastitis memicu terjadinya infeksi, meningkatnya total sel darah putih, turunnya produksi susu, bentuk ambing berubah, dan kehilangan fungsi (Kesehatan Hewan, 2014).

2.1.4 California Mastitis Test

Teknik untuk mengetahui adanya peradangan pada ambing sapi adalah memakai ² *California Mastitis Test* (CMT). *California Mastitis Test* (CMT) menjadi salah satu teknik untuk pemeriksaan mastitis subklinis sampai saat ini dan dinilai paling efektif apabila dilakukan di lapangan. Reagen ini mengandung surfaktan sifatnya basa jadi saat bertemu DNA sel somatik dalam susu menciptakan gel. Leukosit serta runtunan sel epitel terletak didalam sel somatik. Jumlah sel somatik pada susu akan meningkat akibat radang pada jaringan ambing sehingga leukosit berpindah ke jaringan ambing. Leukosit ialah komponen kekebalan tubuh yang diketahui sebagai komposisi primer sel somatik bahan kembar dengan sel somatik.

Sel somatik yang tinggi menunjukkan respons tubuh terhadap adanya infeksi bakteri (Sudarwanto *et al.*, 2009).

2.1.5 Pencegahan dan Pengobatan Mastitis

Pengendalian terhadap mastitis melalui pencegahan, dan pengobatan dapat dilakukan dengan membersihkan lingkungan yang kotor, menggembalakan ternak di tempat yang bersih, jenis obat, dan biaya pengobatan sapi yang terkena mastitis, melakukan pemerahan dengan baik dan benar, baik secara manual ataupun dengan mempergunakan mesin perah, dan pemberian pakan harus memperhitungkan nutrisi yang seimbang. Pengujian terhadap bakteri disarankan dilakukan sebelum penyembuhan supaya didapat hasil yang signifikan. Antibiotik yang dipakai terus-menerus dapat memicu tingginya residu. Sapi yang menderita mastitis tidak boleh dikonsusmis dagingnya. Infeksi yang terjadi pada ambing menyebabkan ambing harus dimusnahkan (Ahmad dkk., 2016).

Pencegahan selanjutnya dapat dilakukan dengan cara pencelupan puting (*Teat dipping*) kedalam larutan antiseptic. Jika teknik ini tidak dilakukan maka dalam waktu 10 detik setelah pemerahan mikroba akan masuk kedalam puting. Kelebihan teknik *teat dipping* ialah mikroba dapat dicegah dan dikendalikan. Teknik ini bisa digunakan memakai bahan antiseptik sintetis misalnya iodine dan chlorine. Antiseptik sintetis ini sebenarnya tidak meninggalkan residu (Safangat dkk., 2014).

9 2.2 Antibiotik

2.2.1 Definisi Antibiotik

Antibiotik ialah senyawa kimia yang diproduksi secara sintetis oleh mikroorganisme. Antibiotik yang digunakan adalah golongan isoniazid, rifampisin, penisilin, sefalosporin dan aminoglikosida. Dimana pengguna antibiotik ini ditentukan status imunologis penderita (Utami, 2011).

Penggunaan antibiotik dibagi berdasarkan spektrum dan cara kerjanya. Namun yang sering digunakan ialah antibiotik yang dipecah berdasarkan senyawa kimianya semisal makrolida, linkosamid, polipeptida, ampenikol, serta anti mikobakterium (Eka, 2011).

2.2.2 Amoxicillin

Antibiotik semisintetik penisilin mempunyai aktivitas antibakteri yang dipicu mikroorganisme rentan ialah *Amoxicillin*. *Amoxicillin* ialah antibiotik berspektrum luas yang mempunyai bioavailabilitas oral tinggi dan tak stabil jika suasananya asam serta terbukannya cincin beta laktam ditaruh di tempat netral saat dikerjakan dengan enzim beta laktamase, untuk memperoleh zat aktif. *Amoxicillin* bekerja menyerang bakteri gram negatif dan positif yang tidak memproduksi β -laktamase (Sofyani dkk., 2018)

Selanjutnya selain penggunaan *Amoxicillin* cara efektif lainnya yaitu diberikan antibiotik ketika kering ke sapi atau kambing terbukti bisa mengurangi total bakteri lalu akhirnya meningkatkan produksi susu. Perlakuan antibiotik yang masih efektif dalam tindakan pengobatan terhadap kasus mastitis patogen antara lain, *Amoxycillin*, *Ampicillin*, dan *Neomycin* (Hanif dkk., 2017).

2.2.3 Kerugian Penggunaan Antibiotik

Kerugian penggunaan antibiotik yang pertama adalah terjadinya Resistensi. Resistance diartikan tak terjadi hambatan tumbuhnya bakteri ketika diberikan antibiotik secara sistematis dengan kadar hambat minima ataupun sesuai dosis normalnya. Resistance yang dipicu oleh dua atau lebih jenis obat ialah *multiple drugs resistance*. Lalu *cross resistance* didefinisikan resistance pada obat lain yang belum terpapar. Terjadinya resistance karena bakteri berubah satu sama lain yang memicu turunnya atau hilangnya efektifitas obatan, serta senyawa kimia lain yang digunakan untuk pengobatan infeksi. Pekanya bakteri pada kuman dinilai berdasarkan kadar hambat minim yang memberhentikan perkembangan bakteri (Utami, 2011).

Kerugian selanjutnya adalah Efek samping. Efek samping obat ialah kemampuan obat merespon obat yang tidak efektif atau merugikan. Antibiotic ialah jenis obat yang menimbulkan efek samping. Dalam dosis kecil obat ini memberikan efek samping. Timbulnya reaksi alergi karena berbagai antibiotik yang dalam sistem imunitas tubuh inang. Dalam tubuh inang yang sehat maupun sakit ada estimasi mikroflora normal, demikian populasi mikroflora biasanya menunjukkan sifat patogen. Kegunaan antimikroba, misalnya jenis spektrum luas bisa mengganggu keseimbangan ekologi mikroflora jadi tipe mikrobiologi totalnya naik jadi antigen. Terganggunya keseimbangan ekologi mikroflora normal tubuh terjadi di saluran napas, cerna, kelamin, dan kulit. Berbagai kondisi perubahan tersebut bisa memicu antimikroba dengan infeksi super (Judarwanto, 2011).

2.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli ialah bakteri dengan bentuk ⁷ batang pendek yang mempunyai panjang sekitsran $2\ \mu\text{m}$, diameter $0,7\ \mu\text{m}$, lebar $0,4-0,7\ \mu\text{m}$. Sifatnya anerob fakultatif dan termasuk bakteri Gram negatif, tidak terbentuk spora, koloni bundarr, cembunng, serta halus dan tepinya nyata. Beberapa strain *E. coli* memicu terjadinya infeksi saluran kencing, diareha, bakteremiia, diare berdarah, dan meningiitis manusia serta hewan. Infeksi lainnya semisal sepsiis dan pneumoniia pada manusiia, dan mastitiis di sapi perah mengakibatkan infeksi bakteri *E. coli*. tempat umum *E. coli* ialah salurran pencernaan manusiia dan hewan, straiin *E. coli* yang sifatnya komensall, tak berbahayaa, serta sifatnya patogenik terhadap manusia serta hewan. *E. coli* bisa didapatkan dari dalam tanahh serta perairan sebagai akiibat kontaminan feces. Kemunculannya dipakai untuk indikator kualitass air ataupun makanann yang tidak baik. *E. Coli* bisa didapatkan dalam lingkungan (semisal tanah, perairan, udaraa, serta debu), perkakas yang dipakai saat proses produksi bisa dipakai untuk indikator resistance antimikroba (Normaliska dkk., 2019)

Escherichia coli ialah kelompok dari flora normal usus. *E. coli* memiliki peranan terpenting pada sintesis vit K, konversan pigment-pigment empedu, asam empeduu serta serapan ⁷ zat makanan. Bakteri *e. coli* masuk dalam bakterii heterotrof yang mendapatkan makanan sejenis zat organiik dari lingkungannya akibat tak bisa menyusunkan zat organiik yang didapatkannya. Zat organiik didapatkan dari ampas organism laiinya. Fungsi bakterii tersebuyt menguraiikan zat organiik kedalam makanann jadi zat annorganik, mialnya CO_2 , H_2O , mineral serta energi. Pada lingkungan, bakterii tersebut bertugas mengurai serta menyediakan nutrisi untuk tanaman (Normaliska dkk., 2019).

2.4 Nano Silver

2.4.1 Definisi Nano Silver

Gambar 2.1 Antibakteri Nano Silver

"Nano" adalah kata Yunani yang berarti kecil atau kerdil. Nanopartikel dapat didefinisikan sebagai partikel dengan ukuran mulai dari 1 hingga 100 nm. Konsep nanoteknologi pertama kali didefinisikan oleh Profesor Noriio Taniiguchi waktu 1974, dan sejak itu, bidang nanoteknologi telah menerima perhatian besar, terutama dari awal 1980-an. Berbagai terminologi digunakan untuk partikel perak seperti koloid perak, nanosilver, struktur nano perak, dan nanopartikel perak (AgNP). Nanoteknologi adalah bidang lanjutan yang berurusan dengan pembuatan berbagai jenis bahan nano yang memiliki aplikasi biomedis. Karena berbagai penyakit yang dapat ditularkan yang disebabkan oleh bakteri patogen yang berbeda dan peningkatan resistensi antibiotik, banyak perusahaan farmasi dan peneliti berusaha keras untuk mensintesis bahan baru dengan meningkatkan aktivitas antibakteri dan mengurangi efek samping. Saat ini, bahan skala nano telah mencapai perhatian besar sebagai agen antimikroba baru karena rasio seluas wilayah pada volumes tertinggi dan sifat fisik dan kimia yang berbeda. Sifat antimikroba spektrum luas yang sangat kuat dari AgNP adalah arah kunci untuk peningkatan produk biomedis berbasis AgNP, termasuk perban, kateter, penyemprot antiseptik, tekstil, dan wadah penyimpanan makanan. Saat ini, berbagai logam termasuk seng, titanium, tembaga, magnesium, emas, dan alginate

digunakan sebagai agen antimikroba, tetapi di antara AgNP ini ditemukan yang paling efisien karena sifat antimikroba. Secara khusus, nanosilver telah diverifikasi memiliki nilai obat yang bagus yang dikaitkan dengan karakteristik antibakteri, antijamur, antivirus, antiprotozoal, anticatalytic, dan karakteristik antiarthropoda (Khan *et al.*, 2018).

Preparasian nanno partikel perak biasanya dipakai dengan cara sintetik secara kimiawi anorganik dan bahan yang dipakai umunya sifatnya toksik, tak aman untuk lingkungan serta kesehatan, semisal benzenna, logam oksida, poliimer serta karbon materiial, mengingatkan aplikasii nanno patiikel yang seluas. Bentukan nanno partikell berasal bahann alamii lebiih tidak toksik dibanding asal bahan sintetik (Sari dkk., 2016).

2.4.2 Mekanisme Antibakteri Nano Silver

Partikel nano silver dikenal memiliki aktifitas antibakteri dipicu mempunyai lebar permukaan yang luas yang kemungkinan bekerja dengan baik dengan mikroorganisme. Saat proses difusi berjalan sel bakteri didekati nano silver kemudian melakukan penetrasi. Protein terkandung dalam nanosilver mengerjakan interaksi bersama protein, kemudian berinteraksi lagi bersama pospor yang terkandung senyawa misalnya DNA. Selanjutnya nanosilver mengerjakan difusi serta melawan rantai pernapasan bakteri, hingga akhirnya sel direbut sampai mati (Saputra dkk., 2011).

12

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian dilakukan pada tanggal 27 Juni 2020 hingga 7 Juli 2020.

15

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat

Adapun alat yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu : gelas ukur, pipet, batang pengaduk, cawan petri, swab kapas steril, penggaris, alat tulis, kamera, api bunsen, ose, timbangan elektrik, *object glass*, *paddle*, label, vortex, autoclave, incubator, mikroskop, spuit, penjepit kayu, tissue, pinset dan tabung reaksi.

6

3.2.2 Bahan

Adapun bahan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu : *Escherichia coli*, media EMBA (*EosinMethylenBlueAgar*), media MHA (*Muller Hinton Agar*), nano silver, susu dari sapi mastitis, *Amoxycillin disk*, kertas disk kosong, sarung tangan, CMT, minyak emersi, *kristal violet*, lugol, alcohol, NaCl fisiologis, aquades, media pepton, media indol, media Simon Sitrat, media TSIA dan McFarlan .

23

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental analisis mengenai pengaruh pemberian antibakteri nano silver pada bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari susu sapi yang terkena mastitis.

3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa variabel yaitu : variabel bebas, variabel terikat dan variabel kontrol. Variabel bebas adalah konsentrasi nano silver dengan konsentrasi 50ppm, 100ppm, 150ppm. Variabel terikat adalah zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Variabel kontrol adalah konsentrasi bakteri *Escherichia coli*, merk cakram disk, dan nano silver.

3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang dibiakan pada media EMBA (*EosinMethylenBlueAgar*). Sampel yang digunakan adalah 25 cawan petri biakan *Escherichia coli* sampel sebanyak 25 diperoleh dari rumus Fedrer (1977) seperti dibawah :

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

Kerang :

n = Jumlah banyaknya ulangan

t = Jumlah banyaknya perlakuan

Maka jumlah ulangan per perlakuan minimal 5.

3.3.4 Rancangan Penelitian

Percobaan ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 5perlakuan dengan 5 kali ulangan, Pada

kelompok P0 sebagai kontrol negatif menggunakan Aquades, Kelompok P0 sebagai kontrol positif dengan perlakuan Amoxycillin, P1 sebagai perlakuan dengan larutan nano silver konsentrasi 50 ppm, P2 sebagai perlakuan dengan larutan nano silver konsentrasi 100 ppm dan P3 sebagai perlakuan dengan larutan nano silver konsentrasi 150 ppm.

3.3.5 Proposal Penelitian

3.3.5.1 Pengambilan Sampel Susu Sapi Mastitis

Teknik pengambilan sampel susu sapi dengan cara membasuh ambing dan puting dengan air hangat. Pemerahan menggunakan *glove* dan masker. Kelimajari tangan digunakan untuk pemerahan, dengan cara puting susu disentuh antara ibu jari dengan cari telunjuk dan empat jari lain, lalu gigit dengan kelima jari dengan pelan hingga susu keluar. Pemerahan pertama dibuang agar bakteri yang ditemukan lebih banyak.

Pengambilan sampel susu dilakukan langsung dari puting sapi dengan membuang kedua perahan awal dan menampung susu mulai dari perahan ketiga sampai berjumlah 2 ml, kemudian mencampurkan dua mililiter susu perputing dengan dua mililiter reagen CMT (*California Mastitis Test*). Setelah dicampurkan goyangkan hingga terbentuk lingkaran horizontal selama 10 detik. Reaksi dapat dilihat adanya perubahan kekentalan atau tidak, kemudian dapat dinilai menggunakan CMT(*California Mastitis Test*) yaitu hasil (-) tidak adanya endapan susu, (+) adanya sedikit endapan susu, (++) terjadi penebalan dan blm terlihat gel, (+++) menebal dan terbentuk gel, dan (++++) gel terbentuk membuat permukaan cembung, mempermudah penghitungan statistik maka lambing diatas diberi nilai,

6 untuk lambang(-) nilainya 0, (+) nilai 1, (++) nilai 2, (+++) nilai 3, (++++) nilai 4 untuk setiap puti susu (Andriani., 2010).

Pengambilan sampel dilakukan pada 5 sapi yang berbeda sebagai ulangan, susu yang sudah positif mastitis pada Uji CMT dengan kriteria nilai 3(+++) diambil sebanyak 10 ml selanjutnya disimpan pada tabung reaksi 13 steril dan telah diberi label. Sampel susu disimpan dalam termos berisi es, agar suhunya stabil pada 5-10°C.

3.3.5.2 Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

Isolasi dilakukan dengan cara pengambilan sampel susu sebanyak 5ml disentrifuse selama 10 menit. Selanjutnya endapan susu diambil kemudian ditambahkan dengan larutan NaCl, lalu disentrifuse selama 10 menit. Proses sentrifuse diulangi sebanyak 3 kali, endapan susu dari proses sentrifuse masing-masing kuartir digoreskan sebanyak 1 ose pada media EMBA dan diinkubasikan selama 20-24 jam dalam suhu 37 °C. Koloni yang terbentuk pada media EMBA selama 24 jam setelah diinkubasi dapat diamati secara makroskopik, *Escherichia coli* 19 memiliki ciri-ciri berwarna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, berwarna hijau metalik, koloni terpisah, diameter berukuran 2-3 mm, coliform yang lain berwarna coklat gelap kemerahan, sedangkan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa tidak berwarna (Ummamie dkk., 2017).

Pemurnian bakteri dilakukan dengan cara streak pada media EMBA. Langkah pertama yang dilakukan adalah panaskan ose pada api bunsen (posisi jarum ose berdiri) kemudian dinginkan, lalu ambil sedikit bakteri yang berwarna hijau metalik menggunakan jarum ose steril, goreskan jarum ose yang terdapat

bakteri diatas permukaan media EMBA dalam cawan petri, lakukan secara perlahan agar tidak merusak media. Selanjutnya ⁶ inkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

Identifikasi mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan gram dengan cara mengambil ² koloni yang berwarna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, metalik kehijauan yang mengkilap menggunakan ose yang telah disterilkan lalu diratakan diatas *object glass* dengan menggunakan aquades dan difiksasi diatas api bunsen hingga kering. Kristal violet ditetaskan hinggapermukaan bakteri yang kering selama 1 menit lalu dibilas menggunakan aquades. Setelah dibersihkan dengan aquades *object glass* ditetesi dengan lugol hingga menutupi permukaan bakteri dan didiamkan hingga 1 menit lalu dibersihkan menggunakan aquades. Setelah dibersihkan ditetesi alkohol lalu teteskan larutan safranin diatas preparat selama 1 menit dan dibilas menggunakan aquades lalu dikeringkan. Tetesi minyak emersi diatas preparat dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10 × 100. Bentuk *Escherichia coli* memiliki ciri berwarna merah, berbentuk batang pendek dan koloni yang tunggal (Jayanti dkk., 2010).

Identifikasi bakteri selanjutnya menggunakan Uji Biokimiawi dengan Uji Simmon Sitrat, Uji Indol, Uji Motilitas dan Ujia TSIA(*Triple Sugar Iron Agar*). Pertama melakukan Uji Simmon Sitrat sebagai smber krabon dengan metode menginokulasi koloni bakteri kedalam media Simmon Sitrat, lalu media di inkubasi dengan suhu 37°C selama 24jam, lalu amati perubahan warna pada media. Warna biru reaksi positif dan hijau reaksi negative. Pengujian kedua menggunakan Indol dilakukan dengan caara menginokulasi bakteri pada media Trypton Broth selama 24jam, lalu tambahkan reagen Kovaks pada media. Terbentuknya cincin merah

menandakan hasil positif. Pengujian ketiga Uji Motilitas Isolat bakteri ke dalam media Sulfide indol Motility Agar ke tabung reaksi menggunakan ose tusuk steril lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24jam. E.coli hasil positif menunjukkan adanya tumbuh bakteri menebar, bakteri motil dan jika bakteri tidak menyebar dan bergerak hanya ada satu garis. Pengujian yang terakhir menggunakan TSIA media padat miring.

Tabel 3.1 Uji Biokimia *Escherichia coli* (Hamida dkk., 2019).

No.	Nama Uji	Hasil Uji biokimia
1.	Indol	pada uji indol bakteri <i>Escherichia coli</i> membentuk adanya cincin merah setelah ditetesi reagen kovax hal ini menunjukkan bahwa <i>Escherichia coli</i> mampu menghasilkan enzim triptopanase.
2.	Motilitas	pada uji motilitas membentuk adanya bakteri <i>Escherichia coli</i> yang menyebar (motil) pada tusukan ose steril.
3.	Sitrat	pada uji sitrat tidak terjadi perubahan warna yang berarti <i>Escherichia coli</i> tidak bisa memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.
4.	TSIA	Pada uji TSIA <i>Escherichia coli</i> menunjukkan hasil memfermentasi 3 jenis gula(sukrosa, glukosa, laktosa) pada TSIA ditunjukkan adanya perubahan warna kuning pada <i>slant</i> dan <i>butt</i> .

3.3.5.3 Pembiakan Bakteri pada Media MHA (*Muller Hinton Agar*)

Pengujian antibiotik dilakukan setelah koloni memperlihatkan hasil positif *Escherichia coli*. Koloni dibiakan dalam NaCl fisiologis dengan konsentrasi 0,5. Hasil perkiraan konsentrasi dalam satuan CFU/mL. Hasil biakan diambil sebanyak

0,1 ml dengan pipet dan di sebarakan dalam media MHA (*Muller Hinton Agar*), menggunakan spatel. Cakram antibiotik yang akan diuji *Amoxycillin disk*, di letakan di atas permukaan agar dan di inkubasi didalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setiap cawan petri berisi 1 cakram antibiotik.

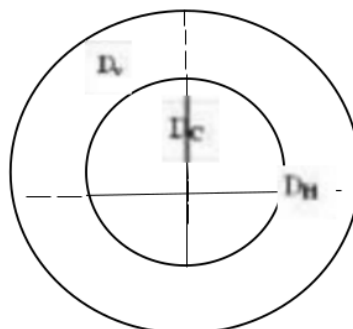
3.3.5.4 Pengenceran dan Pengujian Nano Silver

Antibakteri nano silver yang digunakan dengan konsentrasi 150 ppm. Pengenceran Nano Silver dengan konsentrasi 50ppm, 100ppm dan 150ppm dilakukan dengan penngenceran senyawa uji menggunakan rumus $M1 \times V1 = M2 \times V1$. Pada larutan koloid menghasilkan warna hitam dan terjaid perubahan secara tahap menjadi kuning hingga kuning kemerahan, waran hitam adalah inti. Cakram yang sudah direndam selama 1 jam di tiriskan ke dalam cawan petri lalu letakkan pada media MHA(*Muller Hinton Agarr*), yang sudah terpadat lalu inkubasi selama 24jam dan lihat diameter zona hambat.

3.3.6 Parameter penelitian

Prameter pada percobaan adalah mengamati selama 24jam masa inkubasi. Zona hambat pada cakram adalah tanda kepekaan bakteri terhadap larutan antibakteri. Zona hambat yang terlihat diukur menggunakan 4 sisi diameter dengan satuan mm menggunakan penggaris (Torar dkk, 2015).

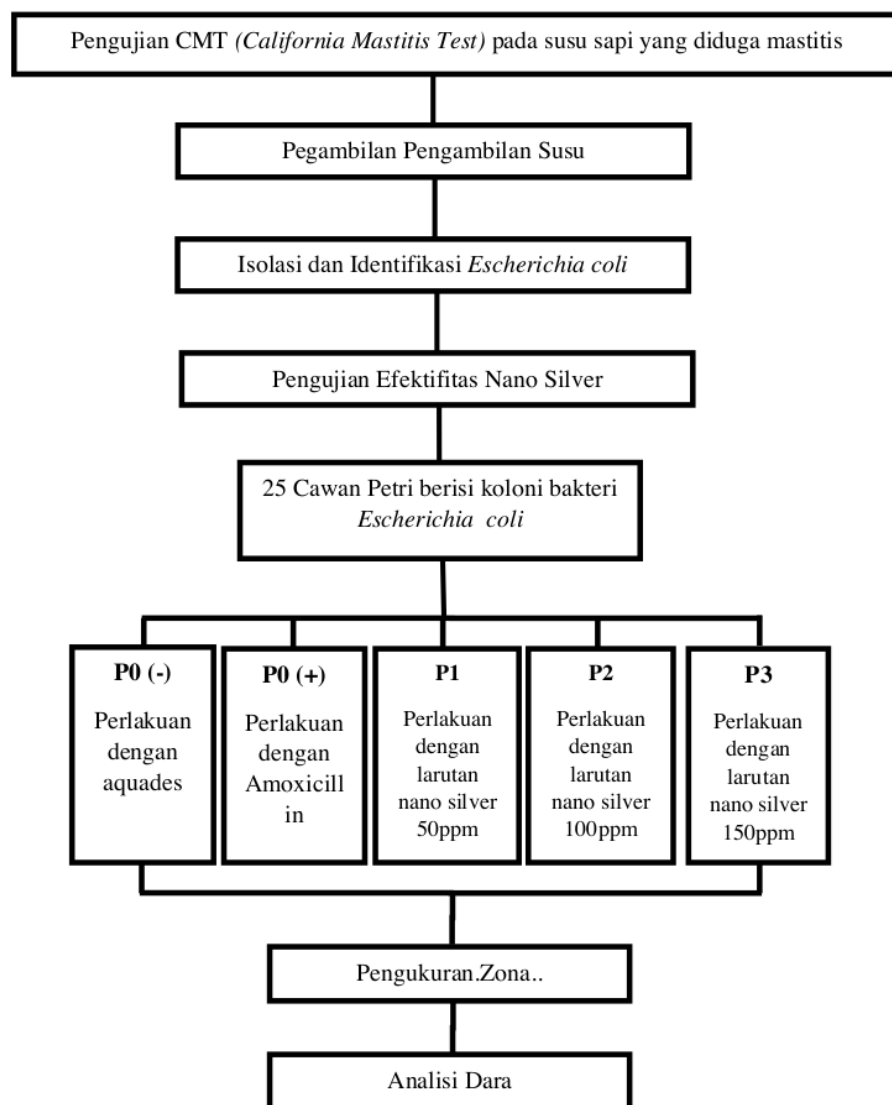
Pengukuran diameter zona hambat :



3.4 Analisis Data

Analisis data untuk mengetahui perbandingan larutan Nano Silver pada penyembuhan mastitis dengan rancang coba menggunakan Rancangan Acak Inkap (RAL) dan ANOVA.

3.4 Kerangka Konsep Penelitian



Gambr 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitia

5

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

18

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya pada tanggal 25 Juni 2020 hingga 7 Juli 2020.

Dalam percobaan uji larutan Nano Silver terhadap aktifitas zona hambat bakteri *Eschericia coli*, diketahui bahwa kontrol negatif menggunakan aquades steril menunjukan tidak ada zona hambat, pada larutan nano silver menunjukan adanya zona hambat. Pada pemberian antibiotik *Amoxicillin* menunjukan zona hambat pada bakteri *Eschericia coli*.

4.1.1 Hasil Pengukuran Zona Hambat *Eschericia coli*

Dari perlakuan diperoleh rata-rata zona hambat larutan nano silver dengan konsentrasi 50ppm, 100ppm, 150ppm dan control positif terhadap bakteri *Eschericia coli* ditunjukkan tabel :

Tabel 4.1 Hasil Pengukuran *Eschericia coli*

Perlakuan	Pengukuran (mm)					Rata – rata (mm)
	1	2	3	4	5	
Aquades (P0 -)	0	0	0	0	0	0
Amoxicillin (P0 +)	19	17	17	17	19	17,8
Larutan50ppm(P1)	4	4	4	4	5	4,2
Larutan100ppm(P2)	5	4	5	6	6	5,2
Larutan150ppm(P3)	6	5	5	7	7	6

32

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukan table di atas dapat diketahui zona hambat larutan nano silver pada konsentrasi 50ppm memiliki rata - rata 4,2

mm, konsentrasi 100ppm memiliki zon hbat rata-rata 5,2mm, dan konsentrasi 150ppm berzona hamba trata 6 mm, yang dapat dikategorikan bahwa ada respon hambatan pada uji zona hambat pada bakteri *Eschericia coli* dan pada Amoxicillin zona hambat bakteri *Eschericia coli* menunjukkan diameter 17,8mm.

Tabel 4.2 Hasil Uji ANOVA Pengukuran Zona Hambat *Eschericia coli*.

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD
Aquades P0 (-)	0,00 $\pm$ 0,000 ^a
Amoxicilin P0 (+)	17,8 $\pm$ 1,095 ^b
Nano silver 50ppm P1	4.40 $\pm$ 0,548 ^c
Nano silver 100ppm P2	5.20 $\pm$ 0,837 ^{cd}
Nano silver 150ppm P3	6.00 $\pm$ 1,000 ^d

Apabila nilai $\text{sig} > 0,05$, maka dikatakan perlakuan. Apabila nilai $\text{sig} < 0,05$ maka dikatakan ada perbedaan yang signifikan. Dari tabel statistik uji anova signifikan karena ($P = 0,000$) sehingga $< 0,05$ dikatakan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan.

Dari tabel 4.2 Hasil analisis statistik SPSS menunjukan nilai P - Value dari P0 (-), P1, P2 dan P3 = 0,00 sehingga nilai P - Value $< 0,05$ yang berarti P0 (-) berbeda nyata dengan P1, P2 dan P3. Nilai dari P0 (+), P1, P2 dan P3 = 0,00 sehingga sehingga nilai P - Value $< 0,05$ yang berarti P0 (+) berbeda nyata dengan P1, P2 dan P3. P0 (-) dengan P0 (+) adalah $P < 0,000$ sehingga dikatakan ada perbedaan nyata, P0 (+) dengan P1 adalah $P = 0,130$ sehingga tidak ada perbedaan nyata karena $> 0,05$, P1 dengan P2 adalah $P = 0,130$ tidak ada perbedaan karena $> 0,05$, P2 dengan P3 adalah $P = 0,005$ ada perbedaan yang nyata, maka dapat

disimpulkan bahwa perlakuan dimana rata-rata zona hambat tertinggi terdapat pada Amoxicillin.

Zona hambat Amoxicillin yang digunakan pada penelitian ini tergolong sedang untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*. Hal ini sesuai dengan pendapat Greenword disitasi oleh Afnidar (2014), tentang klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan CLSI yang tercantum dalam tabel sebagai berikut :

4.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini dapat diketahui kontrol negatif dengan Aquades menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat bakteri sehingga dapat dikatakan bahwa Aquades tidak memiliki efek antibakteri. Sehingga dapat dikatakan aquades tidak dapat menambah efektifitas nano silver (Kemit dkk., 2016).

Nano silver memiliki efek antibakteri, sehingga dapat membentuk zona hambat pada bakteri *Eschericia coli* dan larutan Nano Silver memiliki daya hambat terhadap bakteri *Eschericia coli* dengan konsentrasi 50ppm, 100pp dan 150ppm. Hal ini dikarenakan kandungan AgNP yang efisien karena bersifat antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai kandidat antibiotik (Khan *et al.*, 2018). Dalam penelitian ini penggunaan nano silver dosis yang paling baik adalah 150ppm.

Nano silver diketahui mempunyai aktivitas antibakteri memiliki luas permukaan luas yang memungkinkan melakukan kontak baik dengan mikro organisme. Selama proses difusi berjalan nanosilver mendekat pada membran sel bakteri dan melakukan penetrasi ke dalam bakteri. Membran bakteri mengandung protein

dengan senyawa sulfur sebagai komponen utama. Nano silver melakukan interaksi dengan protein ini, dan kemudian berinteraksi lagi dengan Posfor yang mengandung senyawa seperti DNA, saat nano silver masuk ke dalam sel bakteri, membentuk daerah dengan banyak molekul yang rendah ditengah gumpalan bakteri gumpalan untuk melindungi DNA. Selanjutnya nano silver melakukan difusi dan menyerang rantai pernafasan bakteri, matilah sel tersebut (Saputra dkk., 2011).

Pada perlakuan P1, P2, P3 didapatkan hasil rata-rata zona hambat sebesar 4,4 ; 5,20 ; 6 yang merupakan anti bakteri kategori lemah dan tidak dapat menggantikan Amoxicillin sebagai anti bakteri. Hal ini sesuai dengan hasil uji antibakteri terhadap sampel hasil nano silver didapatkan bahwa konsentrasi AgNP 250 ppm menghasilkan aktivitas anti bakteri yang lebih efektif dibandingkan dengan yang lainnya, dengan nilai hambatan yang paling besar untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* (Saputra dkk., 2011).

Penggunaan Amoxicillin sebagai kontrol positif pada penelitian ini memiliki efektifitas zona hambat yang tertinggi yaitu 17,8 mm dengan dosis 25mg dikarenakan Amoxicillin termasuk antibiotik spektrum luas. Amoxicillin aktif melawan bakteri gram negative dan dapat diabsorpsi dengan baik (Sofyani dkk., 2018).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Hasil pembahasan dan penelitian yang disampaikan dapat disimpulkan bahwa : terdapat efektifitas anti bakteri nano silver yang lemah terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari susu sapi mastitis.

4.2 Saran

Saran yang perlu diberikan setelah melakukan penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian ulang dengan meningkatkan konsentrasi Nano silver agar zona hambat lebih tinggi dan efektif.
2. Dalam melakukan isolasi dan identifikasi perlu berhati-hati untuk mendapatkan biakan bakteri murni tanpa terjadi kontaminasi.
3. Perlu dilakukan uji pada spesies bakteri lainnya.

ORIGINALITY REPORT

14%

SIMILARITY INDEX

12%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

media.neliti.com

Internet Source

2%

2

www.scribd.com

Internet Source

1%

3

repository.unair.ac.id

Internet Source

1%

4

jiip.ub.ac.id

Internet Source

1%

5

Submitted to iGroup

Student Paper

1%

6

pt.scribd.com

Internet Source

1%

7

digilib.unila.ac.id

Internet Source

1%

8

Submitted to Universitas Brawijaya

Student Paper

1%

9

id.scribd.com

Internet Source

<1%

10	id.123dok.com Internet Source	<1 %
11	lib.unnes.ac.id Internet Source	<1 %
12	docplayer.info Internet Source	<1 %
13	justanordinaryvet.blogspot.com Internet Source	<1 %
14	eprints.uns.ac.id Internet Source	<1 %
15	eprints.umg.ac.id Internet Source	<1 %
16	Tan Ding, Zhuo-Jing Luo, Yan Zheng, Xue-Yu Hu, Zheng-Xu Ye. "Rapid repair and regeneration of damaged rabbit sciatic nerves by tissue-engineered scaffold made from nano-silver and collagen type I", Injury, 2010 Publication	<1 %
17	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	<1 %
18	jurnalvitek.com Internet Source	<1 %
19	ejournal3.undip.ac.id Internet Source	<1 %

20	Submitted to Universitas Islam Indonesia Student Paper	<1 %
21	ternaktropika.ub.ac.id Internet Source	<1 %
22	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
23	shintalayyy.blogspot.com Internet Source	<1 %
24	edoc.pub Internet Source	<1 %
25	Submitted to Universitas Muria Kudus Student Paper	<1 %
26	johannessimatupang.wordpress.com Internet Source	<1 %
27	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
28	www.neliti.com Internet Source	<1 %
29	kenzhi17.blogspot.com Internet Source	<1 %
30	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1 %
31	Submitted to Universitas Muhammadiyah	

Surakarta

Student Paper

<1 %

32

Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia

Student Paper

<1 %

33

Submitted to Syiah Kuala University

Student Paper

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off