

PENGARUH SENYAWA FENOL DALAM BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP CMT (*California Mastitis Test*) SAPI PERAH MASTITIS SUBKLINIS

ACTIVITY OF PHENOL OF *Morinda citrifolia* AS NATURAL ANTIBACTERIA TO INHIBIT THE GROWTH OF MASTITIS-ASSOCIATED BACTERIA

Theresia Ika Purwantiningsih^{1*}, Yustina Yuni Suranindyah², dan Widodo²

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, 85616

²Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281

Submitted: 18 April 2017, Accepted: 9 October 2017

INTISARI

Sebagian besar peternak sapi perah kurang memperhatikan sanitasi setelah pemerahan, hal ini memicu timbulnya penyakit mastitis. Mastitis merupakan salah satu penyakit yang sangat merugikan peternak karena menyebabkan penurunan kualitas dan kuantitas susu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mengukur kadar senyawa fenol dalam buah mengkudu mentah, mengkal, dan matang serta mengetahui hasil uji *California Mastitis Test* (CMT) dari sapi yang putingnya telah dicelup menggunakan ekstrak buah mengkudu dan larutan celup puting komersial yang mengandung iodium 1,25%. Hasil penelitian menunjukkan kadar fenol paling tinggi terdapat pada buah mengkudu matang. Analisis statistik *One way anova* menunjukkan bahwa pemberian larutan yang berbeda memberikan efek nyata ($P < 0,05$) dalam uji CMT. Hasil uji lanjut menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) terdeteksi bahwa uji CMT dari puting sapi yang dicelup dengan ekstrak buah mengkudu dan larutan iodium 1,25% (komersial) menunjukkan hasil yang berbeda. Larutan ekstrak buah mengkudu menunjukkan hasil yang lebih baik daripada larutan celup puting komersial yang mengandung iodium. Hasil uji CMT larutan ekstrak mengkudu berbeda nyata dengan larutan komersial dan dapat digunakan sebagai larutan untuk celup puting sapi perah.

(Kata kunci: Antibakteri alami, Fenol, *Morinda citrifolia*, Uji CMT)

ABSTRACT

Most of dairy farmers less of attention about sanitation after milking. It can trigger a disease, mastitis. Mastitis is one of harmful disease in dairy cow, because it can decrease quality and quantity of milk. The aim of this study was to determine active compounds in the noni fruit extract, to measure the levels of phenolic compounds in different stage of fruit maturity and to know the result of California Mastitis Test (CMT) test between teat's cow were dipped with noni fruit extract and commercial teat dipping solution containing 1.25% iodine (commercial). The highest level of phenols was presented in ripe noni fruit. Based on statistical analysis using One Way Anova followed by Duncan's test Multiply Range Test (DMRT), there were significant differences ($P < 0.05$) in CMT test between teat's cow were dipped in noni fruit extract and iodine 1.25% solution. Noni fruit extract solution showed better result than commercial dipping solution containing iodine. The conclusion is noni fruit extract contains natural antibacteria, it can be used to teat dipping solution.

(Key words: Antibacteria, CMT test, *Morinda citrifolia*, Phenol)

Pendahuluan

Kondisi peternakan sapi perah di Indonesia khususnya peternakan rakyat sejauh ini masih kurang memperhatikan sanitasi lingkungan. Hal ini tampak dari kandang, ternak dan peralatan yang kurang dijaga kebersihannya sehingga berakibat

pada kualitas mikrobiologis susu yang rendah. Pencemaran mikroorganisme dapat berakibat pada rendahnya kualitas susu dan terjadinya penyakit mastitis. Mastitis merupakan peradangan yang bersifat kompleks dengan berbagai variasi penyebab, derajat keparahan, lama penyakit dan akibat penyakit yang beragam (Sudarwanto dan Sudarnika, 2008). Bakteri patogen penyebab

* Korespondensi (*corresponding author*):
Telp. +62 85293330549
E-mail: theresiaicha@gmail.com

mastitis adalah *Streptococcus agalactie*, *Mycoplasma bovis* dan *Staphylococcus aureus*. Selain bakteri tersebut, mastitis juga disebabkan oleh bakteri yang berada di sekitar lingkungan, seperti *Escherichia coli* dan *Klesbsilla* sp (Bruno, 2010). Mastitis merupakan penyebab utama kerugian ekonomi dalam industri persusuan dan menurunkan produksi susu (Azizoglu et al., 2013).

Pencelupan puting (*teat dipping*) sapi perah adalah salah satu cara yang digunakan peternak untuk meminimalisir terjadinya mastitis. Subronto (2003) menyatakan *dipping* setelah pemerahan dengan *chlorine* 4% atau iodium, maupun alkohol 70% dapat digunakan dalam tindakan pencegahan penyebaran kuman. Kenaikan residu iodine pada susu sapi telah nyata ditemukan ketika penggunaan 1% iodine dalam larutan celup puting sapi perah. Residu iodine meningkat dalam susu sebesar 80 menjadi 100 µg/L ketika 1% iodophor digunakan dalam celup puting sapi perah (Boddie dan Nickerson, 1989). Celup puting pasca pemerahan telah banyak dilakukan dan secara luas telah diterima sebagai salah satu perlakuan untuk mengurangi infeksi kelenjar susu (Galton, 2004). Saat ini telah dikembangkan celup puting menggunakan bahan alam, yaitu buah mengkudu (*Morinda citrifolia*).

Morinda citifolia adalah mengkudu yang paling dikenal masyarakat luas. Zat antibakteri yang terdapat dalam mengkudu antara lain antrakuinon, acubin, dan alizarin. Senyawa antrakuinon dapat melawan bakteri *Staphylococcus* yang menyebabkan infeksi pada jantung dan bakteri *Shigella* yang menyebabkan disentri. Selain itu, zat-zat aktif yang terkandung dalam mengkudu dapat mematikan bakteri penyebab infeksi, seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Protens morganii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia Coli* (Bangun dan Sarwono, 2002). Konsentrasi 3.000 ppm menunjukkan aktivitas bakteriostatik terhadap *S. typosa* dan *S. aureus* (Damayanti dan Suparjana, 2007). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mengukur kadar senyawa fenol dalam buah mengkudu mentah, mengkal, dan matang serta mengetahui hasil uji *California Mastitis Test* (CMT) dari sapi yang putingnya telah dicelup menggunakan ekstrak buah mengkudu dan larutan celup puting komersial yang mengandung iodium 1,25%.

Materi dan Metode

Materi

Materi yang digunakan untuk membuat ekstrak buah mengkudu terdiri dari buah mengkudu mentah, mengkal, dan matang, mesin penggiling (*grinder* ukuran 60 mesh), timbangan analitik, etanol, kain kasa, *waterbath* dan air. Materi yang digunakan untuk membuat larutan ekstrak mengkudu adalah ekstrak mengkudu, *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), akuades, *magnetic stirrer*, erlenmeyer dan timbangan analitik. Materi yang digunakan untuk uji total fenol adalah asam galat, pereaksi *folin-ciocalteu*, *aquabides*, sodium karbonat, *waterbath* suhu 40°C, kuvet dan sodium karbonat. Materi yang digunakan untuk celup puting sapi perah adalah larutan ekstrak mengkudu matang, larutan celup puting komersial yang mengandung iodine 1,25% dan *dipper*. Materi yang digunakan untuk uji CMT adalah susu sapi segar (pancaran pertama dibuang) dari enam ekor sapi Peranakan Friesien Holstein (PFH) yang menderita mastitis subklinis yang ditandai dengan hasil uji CMT +1 sampai +2, *paddle*, reagen CMT, dan pipet.

Metode

Ekstraksi buah mengkudu. Buah mengkudu mentah, mengkal, dan matang dicuci dengan air mengalir, ditiriskan kemudian dipotong tipis-tipis (kurang lebih 3 mm) dan dioven dengan suhu 50°C selama 48 jam. Setelah kering, dihaluskan dengan mesin penggiling (*grinder*). Serbuk mengkudu yang diperoleh kemudian ditimbang. Serbuk mengkudu yang dihasilkan dimaserasi dengan pelarut etanol 95% dengan perbandingan 1:7 (setiap 1 gram serbuk mengkudu, direndam dalam 7 ml etanol) selama 24 jam, sambil diaduk-aduk. Hasil yang didapatkan disaring dengan kain kasa sehingga diperoleh hasil maserasi cair dan ampas. Hasil maserasi cair diuapkan di atas *waterbath* selama 3 hari atau sampai terbentuk gel dan etanol benar-benar menguap. Ekstrak buah mengkudu yang dihasilkan berupa gel.

Pembuatan larutan ekstrak buah mengkudu. Sebelum membuat larutan ekstrak mengkudu, pertama-tama membuat larutan 0,1% CMC. Sebanyak 0,1 g CMC dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambah akuades sampai volume 100 ml lalu dihomogenkan menggunakan *magnetic*

stirrer. Ekstrak mengkudu matang ditimbang sebanyak 40 g, lalu ditambahkan larutan CMC hingga volume 100 ml, kemudian diaduk hingga ekstrak tercampur seluruhnya.

Uji total fenol. Pembuatan kurva baku standar. Larutan baku standar asam galat ditimbang sebanyak 10 mg lalu ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin-ciocalteu dan 7,5 ml *aquabides*. Campuran tersebut dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian ditambahkan 1,5 ml sodium karbonat 20%. Campuran selanjutnya dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 20 menit dan didinginkan secepatnya pada cairan es. Hasil yang diperoleh diencerkan dengan *aquabides* hingga volume 10 ml. Kemudian dipindahkan ke dalam kuvet, serapan diamati pada panjang gelombang 760 nm.

Penetapan uji total fenol. Pengujian uji total fenol menurut metode Chun *et al.* (2003). Ekstrak mengkudu diambil dan ditambahkan pereaksi folin-ciocalteu sebanyak 0,5 ml dan 7,5 *aquabides*. Campuran tersebut dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian ditambahkan 1,5 ml sodium karbonat 20%. Campuran dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 20 menit dan secepatnya didinginkan pada cairan es, lalu diencerkan dengan *aquabides* hingga volume 10 ml, dipindahkan ke dalam kuvet, serapan diamati pada panjang gelombang 760 nm.

Celup puting sapi perah. Pencelupan puting sapi perah menggunakan ekstrak mengkudu matang konsentrasi 40% dan larutan celup puting komersial. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Puspitasari *et al.* (2012), konsentrasi perasan buah mengkudu 40% mempunyai warna yang sangat jernih yang menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* telah dapat dihambat. Celup puting sapi perah dilakukan setelah pemerahan siang kurang lebih selama 5 sampai 10 detik, setiap hari dalam kurun waktu sebulan. Celup puting sapi perah dilakukan pada keempat puting sapi perah mastitis subklinis. Sapi perah dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama adalah sapi perah kontrol (K0) yang hanya dicelup dengan air, kelompok kedua (K1) adalah sapi perah yang dicelup dengan ekstrak mengkudu matang konsentrasi 40% dan kelompok ketiga (K2) adalah sapi perah yang dicelup dengan larutan celup puting komersial.

Uji CMT. Uji CMT dilakukan pada enam ekor sapi perah yang telah dicelup putingnya. Metode pengujian sampel susu dilakukan menurut metode Mellenberger dan Roth (2000). Langkah pertama yang dilakukan yaitu mengambil 2 cc susu segar dari setiap puting sapi sampel. Susu tersebut diletakkan di *paddle* CMT dengan posisi vertikal. Larutan CMT ditambahkan ke masing-masing bagian *paddle* kemudian *paddle* CMT diputar, sehingga susu dan larutan CMT tercampur. Proses pencampuran tidak lebih dari 10 detik. Hasil yang terlihat dalam *paddle* CMT dibaca dengan cepat karena reaksi yang terlihat akan rusak dalam 20 detik. Penilaian reaksi ini secara visual. Lebih banyak gel yang dibentuk, semakin besar nilainya. Pengujian menggunakan uji CMT dilakukan sekali yaitu sesudah celup puting dengan replikasi sebanyak tiga kali.

Pengamatan hasil pengujian California Mastitis test

Hasil pengujian CMT menurut Mellenberger dan Roth (2000) ditentukan sebagai berikut negatif (tidak terinfeksi) ditandai dengan tidak terdapat gumpalan dan sangat encer, *trance* (sangat ringan dan kemungkinan terjadi infeksi) ditandai dengan adanya gumpalan dan reaksi ini akan menghilang jika *paddle* diputar lagi, positif 1 (infeksi ringan) ditandai dengan larutan yang mengental akan tetapi tidak condong menjadi gel, jika *paddle* diputar lebih dari 20 detik kekentalan menghilang, positif 2 (terinfeksi) ditandai dengan terjadi gumpalan dan membentuk gel yang ringan, campuran akan menggumpal di tengah *paddle* dan akan melapisi bagian bawah apabila dibuang dan positif 3 (terinfeksi kuat) ditandai dengan terbentuknya gel yang sangat kental dan sulit untuk digerakkan.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan One Way Anova dan apabila signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan multiple range test* (DMRT).

Hasil dan Pembahasan

Kandungan fenol dalam mengkudu

Penelitian ini menggunakan buah mengkudu pada tingkat kematangan yang berbeda. Buah mengkudu mentah berwarna hijau tua, keras, dan tidak berbau. Buah

mengkudu mengkal berwarna hijau muda, sedikit lunak dan tidak berbau, sedangkan buah mengkudu matang berwarna putih kehijauan, lembek dan berbau khas. Hasil analisa kuantitatif buah mengkudu dapat dilihat di Tabel 1.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa buah mengkudu mempunyai antibakteri alami yaitu fenol, buah mengkudu matang memiliki kadar fenol paling tinggi. Kandungan fenol buah mengkudu mentah, mengkal dan matang adalah 2,24%, 3,65% dan 6,18%. Yang *et al.* (2011) menyatakan kematangan meningkatkan kandungan antioksidan, total fenol, dan kandungan asam askorbat dari buah mengkudu sehingga semakin matang, kandungan total fenol pada buah mengkudu semakin besar. Fenol telah dipelajari secara ekstensif sebagai desinfektan yang mempunyai aktivitas antibakteri berspektrum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Oliver *et al.*, 2001). Rohman *et al.* (2006) menyatakan senyawa fenol yang terdapat pada buah mengkudu berkisar antara 5,94 sampai 36,52 g setara asam galat. Kadar senyawa fenol dalam buah mengkudu dalam penelitian ini dibandingkan penelitian sebelumnya sedikit berbeda.

Secara tidak langsung sel radang dihitung berdasarkan intensitas reaksi, salah satu metode yang digunakan yaitu dengan melakukan uji *California Mastitis Test* (CMT) (Sudarwanto, 1998). Hasil uji CMT setelah celup puting menggunakan ekstrak buah mengkudu dan larutan komersial dari 6 ekor sapi dapat dilihat di Tabel 2.

Terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) antara sapi kontrol dan sapi yang diberi perlakuan. Hasil uji CMT pada puting sapi perah yang tidak dicelup (kontrol) adalah $2,46 \pm 0,78$, hasil uji CMT pada puting sapi perah yang dicelup menggunakan larutan ekstrak mengkudu adalah $0,98 \pm 0,52$ dan hasil uji CMT pada puting sapi perah yang dicelup menggunakan larutan komersial adalah $1,52 \pm 0,62$. Berdasarkan uji lanjutan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) ekstrak mengkudu dan larutan komersial menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Penggunaan ekstrak mengkudu sebagai bahan alam untuk celup puting sapi perah dapat mengurangi penggunaan antibiotika. Penggunaan obat-obatan memberikan dampak negatif dengan meningkatnya pencemaran lingkungan, selain itu akumulasi residu antibiotik mempengaruhi pertumbuhan dan resistensi terhadap obat-obatan serta immunosupresi (Suhermanto *et al.*, 2011). Beberapa desinfektan yang umum digunakan sebagai larutan celup puting adalah iodine dan chlorhexidine. Penggunaan iodine dapat mengakibatkan resisten antibiotik dan penggunaan desinfektan dalam peternakan sapi perah dapat mengakibatkan berkembangnya resisten antibiotik pada bakteri (Azizoglu *et al.*, 2013).

Celup puting sapi perah sebelum dan sesudah pemerahan menggunakan ekstrak buah mengkudu yang mengandung fenol secara signifikan mencegah mastitis dan

Tabel 1. Hasil analisa kuantitatif buah mengkudu
(*quantitative analysis of noni fruit*)

Sampel (<i>sample</i>)	Total fenol ekivalen asam galat (<i>total phenol equivalent galic acid</i>)
Buah mengkudu mentah (<i>raw noni</i>)	2,24%
Buah mengkudu mengkal (<i>unripe noni</i>)	3,65%
Buah mengkudu matang (<i>ripe noni</i>)	6,18%

Tabel 2. Hasil uji CMT setelah pencelupan puting sapi perah
(*result of CMT test after teat dipping*)

Ulangan (<i>replication</i>)	Kontrol (<i>control</i>)	Ekstrak buah mengkudu (<i>noni extract</i>)	Komersial (<i>commecial</i>)
I	3,00	0,69	1,62
II	2,37	1,50	1,44
III	2,00	0,75	1,50
Rata-rata (<i>average</i>)	$2,46 \pm 0,78^a$	$0,98 \pm 0,52^b$	$1,52 \pm 0,62^c$

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) (*different superscript at the same row indicate significant differences (P < 0.05)*).



Gambar 1. Hasil pengujian CMT pada empat puting sapi perah sebelum dilakukan pencelupan dengan larutan ekstrak mengkudu
(CMT test result on four cow teats before dipping with noni extract).



Gambar 2. Hasil pengujian CMT pada empat puting sapi perah setelah dilakukan pencelupan dengan larutan ekstrak mengkudu
(CMT test result on four cow teats after dipping with noni extract).

terbukti tidak menimbulkan kerusakan dan iritasi pada puting. Oliver *et al.* (2001) menyatakan bahwa pencelupan puting sebelum pemerahan menggunakan larutan desinfektan yang mengandung kombinasi fenolik disertai dengan persiapan ambing dan celup puting setelah pemerahan dapat mengurangi terjadinya infeksi bakteri patogen penyebab mastitis selama laktasi. Fenol sebagai desinfektan mempunyai aktivitas antibakteri berspektrum luas dalam melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Golongan fenol mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan terganggunya transportasi ion-ion organik yang penting ke dalam sel sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga kematian sel (Damayanti dan Suparjana, 2007). Dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri.

Dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktivkan sistem enzim penting dalam sel bakteri (Oliver *et al.*, 2001).

Kesimpulan

Buah mengkudu mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri alami dengan kandungan fenol paling tinggi diperoleh dari buah mengkudu matang. Hasil uji CMT menunjukkan hasil yang signifikan antara puting yang dicelup dengan larutan ekstrak mengkudu dan larutan celup puting komersial. Ekstrak buah mengkudu dapat digunakan sebagai larutan untuk celup puting sapi perah sebagai pengganti larutan celup puting komersial yang mengandung iodium sebesar 1,25%.

Daftar Pustaka

- Azizoglu, R. O., R. Lyman and K. L. Anderson. 2013. Bovine *Staphylococcus aureus*: Dose response to iodine and chlorhexidine and effect of iodine challenge on antibiotic susceptibility. *J. Dairy Sci.* 96: 993-999.
- Bangun, A. P. dan B. Sarwono. 2002. Khasiat dan Manfaat Mengkudu. Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Bruno, D. R. 2010. Mastitis, mammary gland immunity, and nutrition. Mid-South Ruminant Nutrition Conference. Arlington, Texas.
- Chun, O. K., D. O. Kim, and C. Y. Lee. 2003. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51: 8067-8072.
- Damayanti, E. dan T. B. Suparjana. 2007. Efek penghambatan beberapa fraksi ekstrak buah mengkudu terhadap *Shigella dysenteriae*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan", Yogyakarta : 30 Januari 2007.
- Galton, D. M. 2004. Effect of an automatic postmilking teat dipping system on new intramammary infections and iodine in milk. *J. Dairy Sci.* 87: 225-231.
- Mellenberger, R. and C. J. Roth. 2000. California Mastitis Test (CMT). Fact Sheet.
- Oliver, S. P, B. E. Gillespie, M. J. Lewis, S. J. Ivey, R. A. Almeida, D. A. Luther, D. L. Johnson, K. C. Lamar, H. D. Moorehead and H. H. Dowlen. 2001. Efficacy of a new premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis. *J. Dairy Sci.* 84: 1545-1549.
- Puspitasari, G., S. Muwarni, dan Herawati. 2012. Uji daya antibakteri perasan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2036 in vitro. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan. Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Rohman, A., S. Riyanto, dan D. Utari. 2006. Aktivitas antioksidan, kandungan fenol total dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi-fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia.* 17: 136-142.
- Subronto. 2003. Ilmu Penyakit Ternak. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sudarwanto, M. 1998. Pereaksi IPB-1 Sebagai Pereaksi Alternatif Untuk Mendeteksi Mastitis Subklinis. *Media Veteriner* 5: 1-5.
- Sudarwanto, M. dan E. Sudarnika. 2008. Hubungan antara pH susu dengan jumlah sel somatic sebagai parameter mastitis subklinis. *Media Peternakan* 31: 107-113.
- Suhermanto, A., S. Andayani, dan Maftuch. 2011. Pemberian total fenol teripang pasir (*Holothuria scabra*) untuk meningkatkan leukosit dan diferensial leukosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan* 4: 49-56.
- Yang, J., R. Gadi and T. Thomson. 2011. Antioxidant capacity, total phenol and ascorbic acid content of noni (*Morinda citrifolia*) fruits and leaves at various stages of maturity. *Micronesica* 41: 167-176.