

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA MADU ASLI LEBAH ASAL INDONESIA TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

**Mira Andam Dewi<sup>1,2</sup>, Rahmana Emran Kartasasmita<sup>1</sup>, Marlia Singgih Wibowo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha 10 Bandung

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi.

Corresponding author e-mail: miraandamdewi.91@gmail.com

### ABSTRAK

Bakteri yang resisten terhadap antibiotik menimbulkan ancaman serius, sehingga diperlukan obat alternatif untuk mengganti dengan beralih ke bahan alam yang ketersediaannya melimpah di Indonesia, salah satunya adalah madu. Madu “Manuka” dilaporkan efektif mengatasi infeksi kulit yang sudah resisten terhadap antibiotik serta efektif untuk gangguan pencernaan, sehingga fakta tersebut telah mendorong dilakukannya penelitian untuk menguji dan membuktikan efek antibakteri madu jenis lainnya. Pada penelitian ini, enam madu asli lebah, asal Indonesia diuji aktivitas antibakterinya terhadap strain *Staphylococcus aureus* mewakili golongan bakteri Gram positif dan strain *Escherichia coli* mewakili golongan bakteri Gram negatif. Diawali pengumpulan dan penyiapan enam sampel madu uji, kemudian diuji secara organoleptik dan uji fisikokimia untuk menentukan mutu dari madu, meliputi uji aktivitas enzim diastase, hidrosimetilfurfural (HMF) dan kadar air yang dilakukan untuk menguji apakah madu yang diuji asli asal lebah dan dalam kualitas yang baik. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri madu asli lebah tersebut terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pernapasan yang diwakili oleh *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif dan bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan yang diwakili oleh *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif, menggunakan metode difusi agar perforasi. Uji organoleptik yang dilakukan terhadap enam sampel madu asli lebah, asal Indonesia (S1, S2, S3, S4, S5, S6) memberikan hasil yang memenuhi persyaratan mutu madu yang baik. Hasil pengujian enzim diastase dan uji kadar air memenuhi persyaratan SNI 3545:2013 tentang madu. Hasil uji HMF tidak memenuhi syarat, pada sampel S1 dan S6 karena HMF melebihi kadar yang dipersyaratkan. Sampel S1 dan S6 memberikan kadar HMF berturut-turut 62,22 mg/kg dan 50,97 mg/kg, sehingga tidak memenuhi persyaratan kadar HMF maksimum 50% b/b. Uji aktivitas antibakteri madu dengan konsentrasi 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan diameter hambat 21,33 mm pada sampel S4, menunjukkan kategori antibakteri sangat kuat, karena masuk dalam kisaran 20-35 mm, sedangkan pengujian terhadap bakteri *Escherichia coli* pada sampel S4 memberikan diameter hambat 19,67 mm termasuk kategori antibakteri kuat karena masuk dalam kisaran 10-20 mm.

**Kata kunci :** Madu, uji aktivitas antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, metode difusi agar perforasi, HMF

### PENDAHULUAN

Madu merupakan senyawa alami yang dihasilkan dan disimpan dalam sarang madu oleh lebah dengan kandungan karbohidrat yang mencapai 95-97% terhadap bobot kering madu (Namias, 2003 dan Al-Jabri, 2005). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa madu memiliki efek antibakteri (Mulu, dkk, 2004), efek antiinflamasi (Dunford, dkk, 2000), efek antioksidan (Gheldof, dkk, 2003) dan meningkatkan sistem imun (Tonks, dkk, 2007).

Madu memiliki tempat istimewa dalam pengobatan tradisional selama berabad-abad (Zumla dan Lulat, 1989). Hasil penelitian menyatakan bahwa madu terbukti mengandung zat antimikroba yang aktif melawan serangan

berbagai kuman patogen penyebab penyakit (Molan, 1992), namun madu memiliki penggunaan yang terbatas dalam pengobatan modern karena kurangnya dukungan ilmiah (Ali, dkk, 1991). Penemuan yang paling luar biasa adalah aktivitas antibakteri madu telah disebutkan dalam berbagai studi (Al-Waili dan Haq, 2004). Penggunaan madu sebagai obat tradisional untuk infeksi bakteri telah diketahui sejak jaman dahulu. Berdasarkan pada, penelitian ilmiah di bidang tersebut yang mengarah pada identifikasi senyawa antibakteri dimulai dengan perintis laporan van Ketel tahun 1892, menciptakan istilah “inhibine” untuk zat antibakteri yang sensitif terhadap cahaya dan suhu tanpa karakterisasi kimia lebih lanjut

(Dustmann, 1979). Sejak saat itu, banyak investigasi yang sudah dilakukan untuk menjelaskan aktivitas antibakteri dari masing-masing sampel madu melalui efek osmotik atau penurunan pH yang disebabkan beberapa asam organik (Molan, 1992). Sebagian besar, "inhibine" diketahui sebagai hidrogen peroksida, yang terbentuk dalam madu melalui oksidase glukosa (Adcock, 1962). Hidrogen peroksida adalah penyumbang utama terhadap aktivitas antimikroba dari madu, dan konsentrasi yang berbeda dari senyawa ini pada madu yang berbeda menghasilkan efek antimikroba mereka bervariasi (Moussa, dkk, 2011). Namun demikian, beberapa kajian telah menunjukkan bahwa beberapa sampel madu yang memiliki aktivitas antibakteri bertahan setelah mengalami proses penghilangan hidrogen peroksida melalui katalase (Adcock, 1962). Hal tersebut telah diobservasi bahwa madu "Manuka" diperoleh dari pohon Manuka (*Leptospermum scoparium*) di New Zealand, memiliki aktivitas antibakteri "non peroksida" tingkat tinggi (Allen, dkk, 2011). Telah dinyatakan bahwa aktivitas antibakteri dari madu "Manuka" merupakan property komersial yang penting, yang mana dalam istilah pemasaran disebut sebagai "*Unique Manuka Factor*" (UMF), memimpin klasifikasi produk premium yang berbasis pada pengujian mikrobiologi (Mavric, dkk, 2011). Merujuk pada data pustaka diatas dan hasil penelitian madu sebelumnya yang menyatakan ternyata madu ini memiliki banyak manfaatnya dan madu terbukti mengandung zat antimikroba yang aktif melawan serangan berbagai kuman patogen penyebab penyakit, maka akan dilakukan penelitian terhadap beberapa madu yang diperoleh langsung dari pengepul madu dari daerah Jawa Barat dan Riau, yang merupakan madu asli lebah dari Indonesia dan bukanlah tidak mungkin jika pada madu tersebut mengandung zat antimikroba yang berguna bagi kehidupan manusia. Keberadaan madu-madu tersebut di Indonesia memberikan kontribusi besar terhadap keberlangsungan pengobatan dan ekonomi masyarakat secara berkelanjutan, namun masih belum dilakukan penelitian ilmiah berupa karakterisasi fitokimia, terhadap kandungan zat aktif, diantaranya adalah meneliti senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologinya sebagai antimikroba pada madu-madu tersebut. Penggunaan madu-madu tersebut secara tradisional untuk mengobati demam, infeksi saluran pernafasan atas (ISPA), batuk, infeksi saluran pencernaan, penyakit luka tukak lambung, penyakit kulit. Oleh karena itu, perlu

dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi. Dewasa ini, terjadi peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik standar menyebabkan peneliti mencari pengobatan alternatif yang alami dan hasilnya dievaluasi secara ilmiah.

Resistensi bakteri terhadap madu belum pernah dilaporkan (Dixon, 2003), sehingga membuat madu menjadi agen antibakteri yang sangat menjanjikan dalam melawan infeksi bakteri, maka berdasarkan data-data diatas dilakukan penelitian terhadap beberapa madu asli lebah yang merupakan madu asli dari Indonesia untuk diteliti secara ilmiah untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi, yaitu : *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

#### **METODE PENELITIAN**

Rancangan penelitian dilakukan meliputi beberapa tahapan pekerjaan, meliputi : Tahap pekerjaan pertama adalah : penyiapan sampel meliputi pengumpulan empat madu asli lebah dari daerah Maribaya, kabupaten Bandung Barat, satu madu asli lebah dari Gunung Halu, kabupaten Bandung Barat dan satu madu asli lebah dari kepulauan Riau. Dari madu asli lebah yang akan diuji memiliki warna yang berbeda, yaitu terdiri dari satu madu berwarna kuning, dua madu berwarna coklat, satu madu berwarna merah dan dua madu berwarna hitam. Tahap pekerjaan kedua adalah : madu asli lebah yang telah dikumpulkan diuji organoleptik dan uji fisikokimia. Tahap pekerjaan ketiga adalah : dilakukan pengujian aktivitas antibakteri madu asli lebah tersebut terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pernapasan yang diwakili oleh *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif dan bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan yang diwakili oleh *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada pemeriksaan uji organoleptik, semua madu uji memberikan hasil yang memenuhi persyaratan mutu madu mengacu pada SNI 01-3545-201. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik

Sam- pel	Bau	Rasa	Warna	Keaslian Madu	MS/ TMS
				Bentuk (+Air) Hexagonal	
S1	Khas madu	Khas madu	Hitam	hexagonal	MS
S2	Khas madu	Khas madu	Kuning tua kecoklatan	hexagonal	MS
S3	Khas madu	Khas madu	Kuning muda	hexagonal	MS
S4	Khas madu	Khas madu	Kuning tua kecoklatan	hexagonal	MS
S5	Khas madu	Khas madu	Merah	hexagonal	MS
S6	Khas madu	Khas madu	Hitam	hexagonal	MS

Hasil uji fisikokimia telah dilakukan, meliputi uji aktivitas enzim diastase, HMF dan kadar air. Hasil pengujian enzim diastase dan uji kadar air memberikan hasil yang memenuhi persyaratan SNI 3545:2013 tentang madu. Hasil uji HMF tidak memenuhi syarat pada sampel S1 dan S6 karena HMF melebihi kadar yang dipersyaratkan. Sampel S1 dan S6 memberikan kadar HMF berturut-turut 62,22 mg/kg dan 50,97 mg/kg sehingga tidak memenuhi persyaratan karena kadar HMF maksimum 50 % b/b. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fisikokimia

Sampel	DN	HMF (mg/kg)	Kadar Air (%)	MS/ TMS
S1	15	62,22	21,0	TMS
S2	50	11,42	19,2	MS
S3	50	42,82	17,8	MS
S4	50	32,72	19,4	MS
S5	50	21,79	20,2	MS
S6	50	50,97	20,6	TMS

Persyaratan SNI 01-3545-2013 :

HMF = maks. 50 mg/kg

DN = min. 3 DN

Kadar air = maks. 22 %b/b

Hasil uji aktivitas antibakteri madu dengan konsentrasi 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan diameter hambat 21,33 mm pada uji aktivitas sampel S4, dan berada dalam kisaran 20-35 mm, dimana hal tersebut menunjukkan antibakteri dengan kategori sangat kuat. Sedangkan pada uji aktivitas antibakteri madu dengan konsentrasi 100 % terhadap bakteri *Escherichia coli*, menunjukkan diameter hambat 19,67 mm pada uji aktivitas sampel S4 dan berada pada kisaran 10-20 mm, menunjukkan antibakteri dengan kategori kuat. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Konsen- trasi Madu	Diameter Hambat (mm)									
	<i>S.aureus</i>					<i>E. coli</i>				
	20 %	40%	60%	80%	100%	20 %	40%	60%	80%	100%
S1	10,03	10,03	15,5	16,06	16,67	8,56	9,8	12,7	13,6	18,67
S2	-	9,56	11,16	11,53	15,76	9,83	9,96	10,53	12,23	15,46
S3	10,67	10,96	11,16	12,8	16,7	10	10,56	14,3	17,6	18,16
S4	-	11,8	16,26	19,1	21,33	-	11,67	17,46	17,9	19,67
S5	-	10,36	12,4	13,36	13,76	-	-	10,93	13,06	14,93
S6	8,8	10,9	15,10	15,13	15,6	-	9,6	14,03	14,96	15,5

## KESIMPULAN

- Hasil uji organoleptik yang dilakukan terhadap enam sampel madu asli lebah, asal Indonesia (S1, S2, S3, S4, S5, S6) memberikan hasil yang memenuhi persyaratan mutu madu yang baik.
- Hasil uji fisikokimia meliputi uji aktivitas enzim diastase, HMF dan kadar air. Hasil pengujian enzim diastase dan uji kadar air memberikan hasil yang memenuhi persyaratan SNI 3545:2013 tentang madu. Pada pengujian HMF terdapat 2 sampel tidak memenuhi persyaratan, yaitu sampel S1 dan S6 karena kadar HMF yang diperoleh melebihi kadar yang dipersyaratkan, dimana untuk S1 dan S6 hasil ujinya berturut-turut 62,22 mg/kg dan 50,97 mg/kg (lebih besar dari persyaratan uji HMF maksimum 50 % b/b).
- Semua sampel madu asli lebah asal Indonesia yang diuji, memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- Pada uji aktivitas antibakteri madu S1, S2, S3, S5, S6 dengan konsentrasi 100 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

menunjukkan diameter zona hambat dalam kisaran 10-20 mm, dimana hal tersebut menunjukkan klasifikasi kekuatan antibakteri kategori kuat.

5. Pada uji aktivitas antibakteri madu S1, S2, S3, S4, S5, S6 dengan konsentrasi 100 % terhadap bakteri *Escherichia coli*, menunjukkan diameter hambat dalam kisaran 10-20 mm, dimana hal tersebut menunjukkan antibakteri kategori kuat.
6. Pada uji aktivitas antibakteri madu S4 dengan konsentrasi 100 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan diameter hambat dalam kisaran 20-35 mm, dimana hal tersebut menunjukkan antibakteri kategori sangat kuat.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada LPPM UNJANI yang telah mendanai penelitian ini. Terima kasih banyak kami sampaikan kepada Fahrauk Faramayuda, Athina Mardatillah, dan Dwi Aryanto yang telah membantu penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adcock, D.(1962): The effect of catalase on the on the inhibine and peroxide values of various honeys. *J. Apic. Res.*, 1, 38–40.
- Ali AT, Chowdhury M N, Al Humayyd MS (1991): Inhibitory effect of natural honey on *Helicobacter pylori*, *Trop Gastroenterol*, 12, 139-143.
- Al-Jabri A (2005): Honey, milk and antibiotics. *Afr J Biotechn*, 4, 1580–1587.
- Allen, K. L., Molan, P. C., Reid, G. M.(1991): A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J. Pharm.Pharmacol.*, 43, 817–822.
- Al-Waili NS, Haq (2004): Effect of honey on antibody production against thymus-dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses, *J Med Food*, 7, 491-494.

- Dixon B (2003): Bacteria can't resist honey. *Lancet Infect Dis*, 3, 116.
- Dunford C, Cooper RA, White RJ, Molan PC (2000): The use of honey in wound management. *Nurs Stand*, 15, 63–68.
- Dustmann JH (1979): Antibacterial effect of honey. *Apiacta*, 14.
- Gheldof N, Wang X, Engeseth N, Buckwheat (2003): Honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J Agriculture Food Chem*, 51, 1500–1505.
- Mavric E, Wittmann S, Barth G dan Henle T (2008): Identification and quantification of methylglyoxal the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand, *Mol. Nutr. Food Res.* 52, 1-5.
- Molan, P. C.(1992): The antibacterial activity of honey 1: The nature of the antibacterial activity, *Bee World*, 73, 5–28.
- Moussa A., Nouredine D, Mohamed H.S, Abdelmelek M, Saad A(2011): Antibacterial activity of various honey types of Algeria against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 773-776.
- Mulu A, Tessema B, Derbie F (2004): In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens. *Eur Health Dev.*, 18, 107–111.
- Namias N (2003): Honey in the management of infections. *Surg Infect*, 4, 219–226.
- Tonks A, Dudley E, Porter N, Parton J, Brazier J, Smith E, Tonks A (2007): A 5.8kDa component of manuka honey stimulates immune cells via TLR4. *J Leukoc Biol*, 82, 1147–1155.
- Zumla A, Lulat A (1989): Honey: a remedy rediscovered, *J R Soc Med*, 82, 384-385.