

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA JENIS MADU TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI AGAR

¹ Anggi Arumsari, ² Diar Herawati, ³ Muhammad Afrizal

^{1,2,3} Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Bandung, Indonesia
email : ¹anggi.arumsari@unisba.ac.id

ABSTRAK

Secara empiris madu digunakan sebagai makanan dan obat tradisional, dan dalam banyak penelitian diketahui mempunyai aktivitas antibakteri. Madu Manuka yang merupakan madu impor, diketahui mengandung berbagai komponen, beberapa di antaranya *glyoxal* dan *methylglyoxal* yang memiliki sifat antibakteri; Madu Rahmi diklaim dipanen saat enzim diastase dan enzim invertase yang terkandung dalam madu tersebut dalam konsentrasi yang tinggi, sehingga diharapkan memiliki aktivitas antibakteri; dan Madu Kelengkeng Perhutani Bogor diketahui termasuk kedalam jenis madu monoflora. Berdasar hal tersebut maka perlu untuk dilakukan karakterisasi dan uji aktivitas antibakteri ketiga madu tersebut terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Karakterisasi madu meliputi pengujian organoleptis, pengujian keasaman dengan menggunakan metode titrasi asam-basa, menganalisis kadar air dan mengukur indeks bias. Uji selanjutnya adalah uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar. Ketiga sampel madu memenuhi parameter standar organoleptis (bau, rasa dan warna) dan parameter keasaman SNI dan *United State for Grades of Extracted Honey*. Madu Manuka dan Madu Rahmi terlihat memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan Madu Kelengkeng tidak terlihat memiliki aktivitas antibakteri.

Kata Kunci: Madu Manuka, Madu Rahmi, Madu Kelengkeng, antibakteri

ABSTRACT

Empirically honey is used as food and traditional medicine, and in many studies it is known to have antibacterial activity. Manuka honey, which is an imported honey, is known to contain various components, some of which are glyoxal and methylglyoxal which have antibacterial properties; Rahmi's honey is claimed to be harvested when the diastase and invertase enzymes contained in honey are in high concentrations, so they are expected to have antibacterial activity; and Perhutani Bogor Kelengkeng Honey is known to be included in the type of monoflora honey. Based on this, it is necessary to characterize and test the antibacterial activity of the honey against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Characterization of honey includes organoleptic testing, acidity testing using acid-base titration method, analyzing water content and measuring the refractive index. The antibacterial activity test using agar diffusion method. The three honey samples met the organoleptic standard parameters (odor, taste and color), and the acidity parameters of SNI and United State for Grades of Extracted Honey. Manuka Honey and Rahmi Honey appear to have antibacterial activity, while Kelengkeng Honey does not appear to have antibacterial activity.

Keywords: Manuka Honey, Rahmi Honey, Kelengkeng Honey, antibacterial

1. PENDAHULUAN

Madu secara empiris digunakan sebagai makanan dan obat tradisional; dan menurut

Mundo, Padilla-Zarkour, dan Worobo (2004)

diketahui mempunyai aktivitas antibakteri

terhadap *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Staphylococcus aureus*.

Di Indonesia juga terdapat berbagai jenis madu, tidak hanya madu lokal di Indonesia juga terdapat berbagai jenis madu impor, salah satunya yaitu madu Manuka. Madu Manuka diklaim dapat digunakan sebagai antibakteri dari berbagai jenis bakteri yang dapat menyebabkan infeksi dikarenakan kandungan *methylglyoxal*, yang merupakan senyawa turunan hidrogen peroksida yang memiliki efek sebagai antibakteri.

Sementara itu di daerah Parongpong, Jawa Barat terdapat peternakan lebah madu yang diberi nama Madu Rahmi, yang diklaim dipanen pada saat enzim diastase dan enzim invertase yang terkandung dalam madu tersebut dalam konsentrasi yang tinggi, sehingga diharapkan memiliki aktivitas antibakteri (Sandra, 2011). Serta Madu Kelengkeng Perhutani yang terletak di daerah Parung Panjang, Bogor dan termasuk kedalam jenis madu monoflora (Hariyati, 2010). Berdasar fakta tersebut maka dinilai perlu dilakukan penelitian mengenai karakteristik dan aktivitas antibakteri pada ketiga madu tersebut.

2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Madu Manuka, Madu Rahmi, dan Madu Kelengkeng, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*; sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain autoklaf, cawan

petri, laminar flow, bunsen, ose, hotplate, vortex, inkubator, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Karakterisasi madu meliputi pengujian organoleptis berupa rasa, bau, dan warna dengan menggunakan panca indera, pengujian keasaman dengan menggunakan metode titrasi asam-basa menggunakan NaOH 0,1N; menganalisis kadar air dan indeks bias dengan alat refraktometer.

Uji selanjutnya adalah uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar. Kedua suspensi yang mengandung 10^6 CFU/ml bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* diinokulasi dalam media Nutrient Agar (NA). Setelah mengeras, dibuat empat sumur dengan diameter 6 mm pada permukaan masing-masing plate, kemudian dimasukkan masing-masing Madu Manuka, madu Rahmi, dan madu kelengkeng ke dalam masing-masing sumur tersebut sebanyak 20 μ l. Setelah itu cawan petri diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, akan muncul zona penghambatan. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona penghambatan. Diameter zona penghambatan dihitung sebesar diameter zona bening yang terbentuk.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter standar yang dilakukan dari ketiga madu meliputi uji organoleptis bau, rasa dan warna serta keasaman. Analisis parameter yang dilakukan ini berdasarkan

pada SNI 3545:2013 mengenai madu. Standar uji organoleptis warna juga mengacu pada *United States Standards for Grades of Extracted Honey*.

Pada **Tabel 3.1.** dapat dilihat parameter organoleptis yang meliputi bau, rasa dan warna dari ketiga madu telah memenuhi persyaratan standar mutu madu. Dari pengujian organoleptis rasa pada madu, terdapat perbedaan dari ketiga rasa dari ketiga madu tersebut, perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh nektar yang diambil oleh lebah penghasil madu tersebut yang berbeda. Pada Madu Manuka nektar yang dihasil yaitu nektar yang berasal dari tumbuhan Manuka (*Leptospermum scorparium*) saja yang diambil oleh lebah *Apis mellifera*, sehingga Madu Manuka memiliki rasa manis khas madu yang ditambah sedikit rasa asam.

Kemudian Madu Rahmi dihasilkan oleh lebah *Apis dorsata* yang mengambil nektar dari berbagai tumbuhan (*multiflora*), sehingga Madu Rahmi memiliki rasa manis khas madu. Sedangkan Madu Kelengkeng Perhutani dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang menghisap nektar dari tumbuhan kelengkeng, sehingga Madu Kelengkeng Perhutani memiliki rasa manis khas madu yang ditambah sedikit rasa kelengkeng. Ketiga madu tersebut memenuhi standar persyaratan mutu madu yang telah ditetapkan oleh SNI.

Pada uji organoleptis warna, dari ketiga madu tersebut memiliki warna yang berbeda-

beda. Madu Manuka memiliki warna coklat muda, Madu Rahmi berwarna coklat kehitaman dan Madu Kelengkeng Perhutani memiliki warna coklat kekuningan. Warna yang berbeda tersebut dapat dipengaruhi oleh sumber nektar yang diambil oleh lebah, penyimpanan dan usia madu. Jika madu yang diambil dari sarang lebih cepat maka warna madu akan semakin terang begitu juga jika madu yang diambil dari sarang lebih lama maka warna madu akan semakin gelap, hal ini dikemukakan oleh *United States Standards for Grades of Extracted Honey*.

Pengujian keasaman madu dilakukan dengan dengan titrasi dengan menggunakan NaOH 0,1N; prinsip dari pengujian ini yaitu netralisasi asam dengan basa. Tujuan dari pengujian keasaman madu ini ialah untuk mengetahui banyaknya senyawa asam yang terkandung didalam madu. Pada tabel di atas dapat dilihat keasaman dari ketiga madu tersebut masih memenuhi persyaratan dari keasaman madu yang ditetapkan oleh SNI. Namun dari ketiga madu tersebut Madu Manuka memiliki nilai keasaman yang paling tinggi. Keasaman tersebut dapat mempengaruhi rasa dari madu.

Pada pengujian indeks bias dapat dilihat dari tabel bahwa ketiga madu tersebut memenuhi persyaratan indeks bias yang sudah ditetapkan oleh SNI. Dari data indeks bias yang diperoleh dapat dikonversi untuk mengetahui kadar air dari ketiga madu, dan

ketiga madu tersebut memenuhi persyaratan kadar air yang sudah ditetapkan oleh SNI.

Pada pengujian aktivitas antibakteri ini digunakan metode difusi agar. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ketiga madu dapat dilihat pada **Tabel 3.2**.

Pada tabel tersebut dapat dilihat aktivitas antibakteri dari ketiga madu. Madu Manuka dengan konsentrasi 80% dapat menghambat kedua bakteri yaitu bakteri Gram (+) *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*, sedangkan Madu Rahmi dengan konsentrasi 100% dapat menghambat kedua bakteri yaitu bakteri Gram (+) *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*, dan Madu Kelengkeng dengan konsentrasi 100% tidak dapat menghambat pertumbuhan dari kedua bakteri tersebut. Dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini aktivitas antibakteri berturut pada madu manuka > madu rahmi > madu kelengkeng. Aktivitas antibakteri ini bersumber dari komponen – komponen antibakteri yang telah dipaparkan pada bagian pendahuluan, sebelumnya.

Perbedaan jenis tumbuh-tumbuhan yang cairan bunganya diambil oleh lebah untuk memproduksi madu akan mempengaruhi karakteristik dari madu, seperti rasa, aroma, warna; dan komposisi dalam madu mempengaruhi aktivitas antibakterinya. Menurut Berri, Jamal, dan Asterina (2012), ada beberapa faktor yang

yang menyebabkan adanya aktivitas antibakteri pada madu, yaitu dari jenis bunga yang ambil nektarnya yang berasal dari daerah yang berbeda serta kandungan gula yang tinggi yang terdapat di dalam madu. Beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri madu antara lain keasaman, tekanan osmotik dan hidrogen peroksida, dan ada juga faktor nonhidrogen peroksida yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri madu seperti asam fenolik dan flavonoid yang juga terdapat di dalam madu.

Keasaman memiliki pengaruh yang besar terhadap pertumbuhan bakteri, ketika pH turun sampai pada batas terendah untuk pertumbuhan bakteri tidak hanya sel bakteri yang akan berhenti pertumbuhannya, akan tetapi bakteri juga akan kehilangan kemampuan hidupnya. Dengan keasaman yang tinggi pada madu, jumlah konsentrasi ion hidrogen juga akan meningkat, hal ini akan dapat mengganggu gradien transmembran proton dari sel bakteri (Hariyati, 2010). Tabel 3.1 memperlihatkan tingkat keasaman secara berturut madu Manuka > madu Rahmi > madu kelengkeng, yang memperlihatkan bahwa semakin tinggi tingkat keasaman maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

Di dalam madu juga diindikasikan terdapat senyawa fenol yang bersifat antibakteri, mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri ialah dengan cara

meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta akan mengendapkan protein sel mikroba (Hariyati, 2010). Kandungan hidrogen peroksida yang terdapat dalam madu juga dapat membunuh bakteri, hidrogen peroksida bekerja secara reaktif merusak gugus fungsi biomolekul pada sel bakteri.

Madu juga mengandung enzim katalase, sehingga setelah meracuni bakteri hidrogen peroksida akan segera dirubah menjadi air dan oksigen (Chepulis, 2008). Menurut Alvarez-Suarez, Gasparrini, Mazzoni, Forbes-Hernandes, dan Giampieri (2014) madu manuka memiliki kandungan senyawa golongan fenolat dan flavonoid, golongan peroksida, serta senyawa 1,2-dicarbonyl glyoxal (GO), 3-deoxyglucosulose (3-DG) dan methylglyoxal (MGO) sebagai komponen yang memiliki aktivitas antibakteri, dan diketahui madu manuka juga memberikan hambatan terhadap dua bakteri uji tersebut di atas.

Faktor lain yang dapat memberikan aktivitas antibakteri pada madu secara umum

yaitu kadar gula tinggi yang terdiri dari glukosa 30,30%, fruktosa 38,40% dan sukrosa 1,30% sehingga mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Kandungan gula yang tinggi dapat menyebabkan tekanan osmosis pada madu, yang dapat menyebabkan kematian makhluk bersel satu seperti bakteri (Chepulis, 2008).

Konstituen gula yang ditemukan dalam madu manuka adalah senyawa 1,2-dicarbonyl glyoxal (GO), 3-deoxyglucosulose (3-DG) dan methylglyoxal (MGO). Senyawa-senyawa ini biasanya terbentuk selama reaksi Maillard atau reaksi karamelisasi sebagai produk degradasi dari pengurangan karbohidrat, dan telah diidentifikasi sebagai kontributor penting bagi aktivitas antibakteri non-peroksida (Mavric, 2008; Stephens, 2010; dan Tuberoso, 2009).

Adapun komposisi madu Rahmi dan madu kelengkeng belum dapat diketahui secara detil hingga saat ini, sehingga belum bisa diperoleh komponen apa yang berpengaruh terhadap aktivitas antibakterinya.

Tabel 3.1. Hasil Analisis beberapa Parameter Standar Madu

Parameter	Standar	Jenis Madu		
		Madu Manuka	Madu Rahmi	Madu Kelengkeng Perhutani
Rasa	khas madu	khas madu sedikit asam	khas madu	khas madu sedikit rasa kelengkeng
Bau	khas madu	khas madu	khas madu	khas madu
Warna	Bening-Hitam	Coklat Kehitaman	Coklat Tua	Coklat Kekuningan
Keasaman (ml N NaOH/kg)	Maks 50	32	28	10
Indeks Bias	1,4740 - 1,5044	1,482	1,477	1,486
Kadar Air	13 - 25	21,8	23,8	20,2

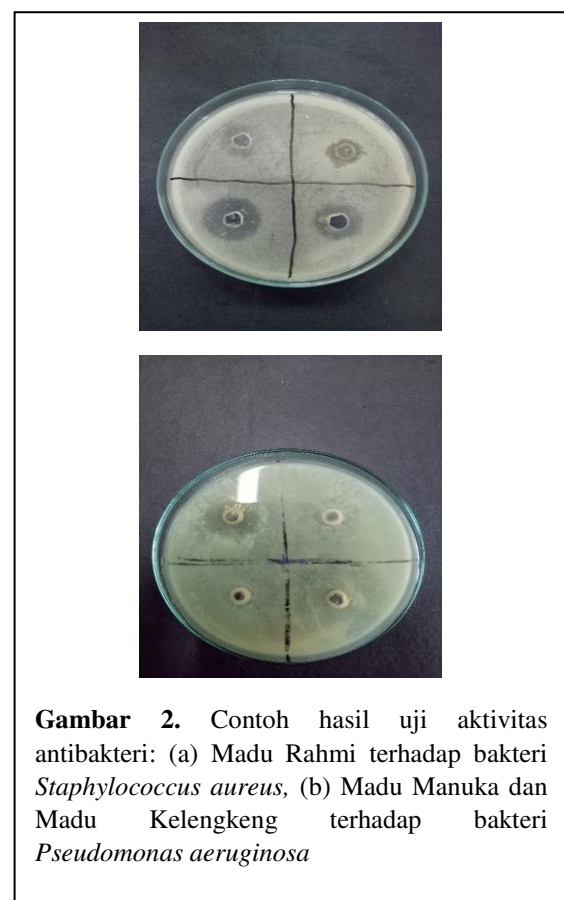
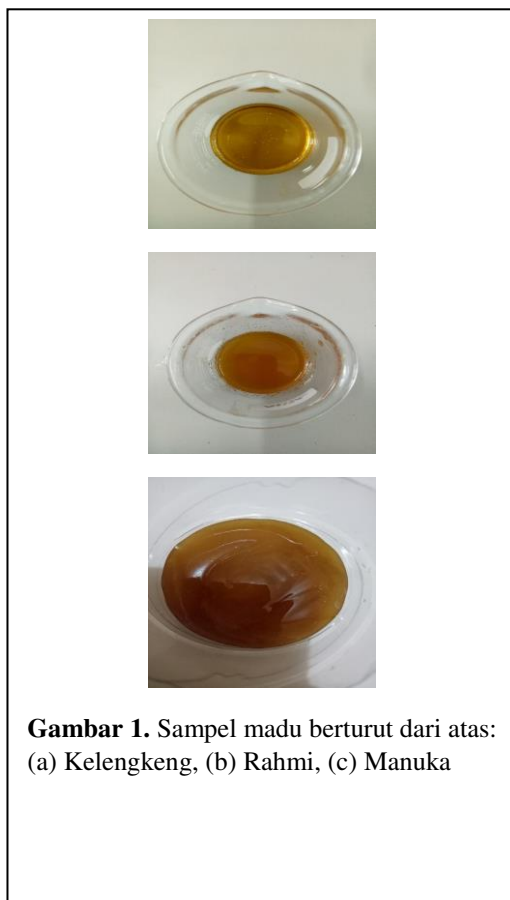
Tabel 3.2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu secara Kualitatif

Bakteri	Konsentrasi Madu Terhadap Bakteri Uji (%b/v)		
	Manuka (80 %)	Rahmi (100 %)	Kelengkeng Perhutani (100 %)
<i>S. aureus</i>	+	+	-
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	-

Keterangan :

(-)= tidak ada daya hambat

(+) = terlihat ada daya hambat



4. KESIMPULAN DAN SARAN

Madu Manuka, Madu Rahmi dan Madu Kelengkeng Perhutani memenuhi parameter standar organoleptis (bau, rasa dan warna) SNI dan *United State for Grades of Extracted Honey*. Dari hasil uji aktivitas antibakteri bakteri madu, Madu Manuka dan Madu

Rahmi terlihat memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan Madu Kelengkeng tidak terlihat memiliki aktivitas antibakteri, disebabkan perbedaan jenis sumber tumbuh-tumbuhan yang mempengaruhi karakteristik dari madu, seperti rasa, aroma, warna; dan komposisi madu. Disarankan untuk meneliti komposisi

detil Madu Rahmi dan Madu kelengkeng untuk melihat pengaruh terhadap aktivitas antibakterinya.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih dihaturkan pada Prodi Farmasi FMIPA Unisba yang telah memberikan bantuan dana dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- BSN, 2004. *Standar Nasional Indonesia Madu SNI 3545-2004*, Jakarta: 1,2
- BSN, 2013. *Standar Nasional Indonesia Madu SNI 3545-2013.*, Jakarta: 1,2
- Chepulis L., 2008. *Healing Honey: A Natural Remedy for Better Health and Wellness*, Universal-Publishers, USA
- Hariyati LP., 2010. Aktivitas Antibakteri Berbagai Jenis Madu Terhadap Mikroba Pembusuk (*Pseudomonas fluorescens* FNCC 0071 dan *Pseudomonas putida* FNCC 0070), Skripsi, UNS:8
- José M. Alvarez-Suarez, Massimiliano Gasparrini, Tamara Y. Forbes-Hernández Luca Mazzoni dan Francesca Giampieri, (2014). The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey 3, Foods, 2014, ISSN 2304-8158: 420-432
- Mavric E., Wittmann S., Barth G., Henle T., 2008. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. Mol. Nutr. Food Res., **52**: 483–489
- Mundo MA., Olga I., Padilla-Zakour, dan Worobo RW., 2004. Growth Inhibition of Food Pathogens and Food Spoilage Organisms by Selected Raw Honeys. International Journal of Microbiology, **97**: 1-8
- Sandra R., Herawati D., dan Rusdi B., 2015. Perbandingan Parameter Standar dan Aktivitas Antibakteri Madu Manuka dan Madu Rahmi dengan Metode Difusi Agar, *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba* ISSN 2460-6472: 304
- Stephens JM., Schlothauer RC., Morris BD., Yang D., Fearnley L., Greenwood DR., Loomes KM., 2010. Phenolic composition and methylglyoxal in some New Zealand manuka and kanuka honeys. Food Chem., **120**: 78–86
- Tuberoso, C.I.; Bifulco, E.; Jerkovic, I.; Caboni, P.; Cabras, P.; Floris, I. (2009) Methyl syringate: A chemical marker of asphodel (*Asphodelus microcarpus* Salzm. et Viv.) monofloral honey. J. Agric. Food Chem., **57**, 3895–3900.
- United States Department of Agriculture, 1985. *Standards for Grades of Extracted Honey*, Agricultural Research Service, USA: 2-5
- Yugo BPR., Aziz J., Asterina, 2012. Perbandingan Efek Antibakteri Madu Asli Sikabu dengan Madu Lubuk Minturun terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, Universitas Andalas, Padang: 61