

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA MACAM-MACAM MADU PADA BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DENGAN METODE DIFUSI AGAR DAN DILUSI CAIR

Siti Aisyah Ratna Putri¹, FX Haryanto Susanto², Sabrina Handayani Tambun³, Teguh Oktiarso

Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung, Malang
611710070@student.machung.ac.id

Abstrak

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental *laboratories*, yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada jenis madu multiflora, madu randu, madu mente, madu rambutan, madu sono, madu akasia, madu karet. Pada penelitian ini telah dilakukan uji pendahuluan, skrining fitokimia, dan pengujian antibakteri untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 20, 25, 50, dan 100%. Hasil uji fitokimia diketahui bahwa masing-masing madu positif mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, dan saponin. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa masing-masing madu positif memiliki aktivitas antibakteri. KHM dan KBM yang diperoleh menunjukkan bahwa masing-masing madu memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, namun hanya madu rambutan pada bakteri *Escherichia coli* yang tidak memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri.

Kata kunci: antibakteri, madu, KHM, KBM, *E.coli*, *S.aureus*, difusi cakram, dilusi

Abstract

This study is an experimental laboratory, conducted to get the antibacterial activity in the types of multiflora honey, randu honey, mente honey, rambutan honey, sono honey, acacia honey, rubber honey. In this study, preliminary tests, phytochemical screening, and antibacterial tests have been carrying out to determine the Minimum Inhibitory Level (MIC) and Minimum Killing Rate (KBM) at concentrations of 20, 25, 50, and 100%. Phytochemical test results it's known that each honey contains positive alkaloids, flavonoids, glycosides, and saponins. Antibacterial test results showed that each honey's positively had antibacterial activity. MIC and KBM obtained showed that each honey can inhibit the growth of bacteria, but only rambutan honey in *Escherichia coli* bacteria cannot kill bacteria.

Keywords: antibacterial, honey, MIC, KBM, *E.coli*, *S.aureus*, disc diffusion, dilution

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman sumber daya nabati dan hewani. Salah satunya adalah dengan banyaknya jenis tanaman berbunga dan selalu ada sepanjang tahun. Hal ini menjadikan Indonesia sebagai tempat yang cocok sebagai habitat

berbagai jenis serangga salah satunya adalah lebah madu.

Madu merupakan suatu senyawa alami yang dihasilkan dan disimpan pada sarang madu yang memiliki kandungan karbohidrat yang mencapai 95-97%. Madu sendiri diproduksi oleh lebah madu yang berasal nektar bunga. Senyawa dari madu telah dipercaya sebagai obat tradisional untuk berbagai macam penyakit seperti penanganan luka, gangguan pencernaan, gangguan mata, gangguan pernapasan, dan sumber multivitamin serta mineral yang berguna untuk kesehatan tubuh (Yuliati, 2017).

Penggunaan madu menjadi salah satu obat tradisional untuk menangani penyakit infeksi bakteri sudah diketahui sejak jaman dahulu. Selanjutnya untuk mendukung pernyataan tersebut memerlukan dilakukannya penelitian lanjutan yang mengarah pada identifikasi senyawa antibakteri yang terkandung pada madu. Hal ini akhirnya menjadikan eksistensi madu-madu di Indonesia semakin besar terhadap keberlangsungan pengobatan dan ekonomi masyarakat secara berkelanjutan. Akan tetapi masih belum dilakukan penelitian lebih lanjut tentang karakterisasi fitokimia kandungan zat aktif pada madu secara lebih mendalam terutama pada kemampuan senyawa madu dalam mengatasi pertumbuhan mikroba, sehingga penelitian lebih lanjut tentang zat aktif yang terkandung pada madu perlu dilakukan (Putri, NN dan Maulida, 2018).

Merujuk pada hasil penelitian Suryana tahun 2016 yang menyatakan bahwa madu memiliki banyak manfaat dan terbukti mengandung zat antimikroba yang mampu melawan serangan berbagai bakteri patogen penyebab penyakit, dan banyaknya jenis madu yang berada di pasaran maka selanjutnya akan dilakukan penelitian terhadap beberapa madu yang beredar di daerah Malang, yang merupakan madu asli lebah dari Indonesia. Hingga saat ini resistensi bakteri terhadap madu belum pernah dilaporkan, hal ini akhirnya membuat madu menjadi agen antibakteri yang sangat menjanjikan dalam melakukan perlawanan terhadap infeksi bakteri (Suryana, 2016).

Antibiotika merupakan obat yang digunakan secara sistemik untuk mengobati infeksi bakteri. Antibiotika pertama kali ditemukan pada tahun 1910 oleh Paul Ehrlich, dan mulai dikenalkan sebagai obat pada manusia pada tahun 1940. Memasuki abad ke 21 penggunaan antibiotik telah mengalami banyak penyalahgunaan, diantaranya seperti salah guna, salah dosis, dan salah pasien. Hal ini mengakibatkan antibiotik mengalami resistensi. Penggunaan antibiotik sebagai



obat selama kurang lebih 70 tahun ini mengalami peningkatan persebaran yang disertai dengan peningkatan angka kejadian resistensi terhadap antibiotik (Humaida, 2014).

Resistensi antibiotik sendiri dapat diartikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan dari bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal atau kadar hambat minimalnya. Seiring dengan perkembangan zaman dan kemudahan dalam memperoleh informasi penggunaan antibiotik semakin dikenal baik di lingkungan tenaga medis maupun di lingkungan masyarakat umum, namun banyak masyarakat yang mengenal antibiotik secara salah, yang terbukti dengan banyaknya kesalahan penggunaan *misused*. Hal ini dapat terjadi karena adanya penggunaan obat secara tidak rasional (Panjaitan et al., 2018).

Penggunaan obat yang tidak rasional merupakan salah satu masalah kesehatan serius yang ada di Indonesia, jika hal ini terus-terusan terjadi maka secara tidak langsung akan menimbulkan banyak kerugian diantaranya seperti menimbulkan kuman menjadi resisten, dan dapat menimbulkan infeksi yang lebih serius karena adanya resistensi bakteri. Selain itu, dampak penggunaan obat yang tidak rasional lainnya adalah seperti meningkatnya kejadian efek samping obat, meningkatnya kejadian alergi obat pada pasien yang memiliki kondisi khusus, dan interaksi obat.

Oleh sebab itu berdasarkan data yang telah diperoleh dilakukan penelitian lanjutan terhadap beberapa madu lokal asli Indonesia untuk diteliti secara ilmiah untuk mengetahui berbagai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* fsebagai perwakilan dari bakteri gram positif dan *Escherichia coli* fsebagai perwakilan dari bakteri negatif dengan menggunakan metode difusi agar dan dilusi cair pada beberapa jenis madu yang beredar di masyarakat daerah Malang. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dipilih karena bakteri tersebut sudah mewakili populasi dari bakteri gram positif maupun gram negatif, selain itu populasi bakteri ini sering ditemukan pada lingkungan (Humaida, 2014).

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah Untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada berbagai jenis madu terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* dan Untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berbagai jenis madu terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

II. MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

A. Material

Bahan baku utama yang digunakan adalah madu madu multiflora, madu randu, madu mente, madu sono, madu akasia, madu karet, media Nutrien Agar dan Nutrien Broth, kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, akuades, *blank disc*. Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk penelitian adalah timbangan analitik, *beaker glass* 250 ml dan 100 ml, gelas ukur 10 ml, spatula, aluminium foil, cawan petri, autoklaf, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), gelas ukur, erlenmeyer, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pinset, mikroskop, pipet tetes, *microwave*, *vortex*, oven, jangka sorong dan alat tulis.

B. Metode

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental *laboratories*, yaitu Uji Aktivitas Antibakteri pada macam-macam Madu pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi agar dan Dilusi cair untuk mengetahui aktivitas anti bakteri pada jenis madu multiflora, madu randu, madu mente, madu rambutan, madu sono, madu akasia, dan madu karet.

2. Populasi dan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7 jenis madu diantaranya adalah madu multiflora, madu randu, madu mente, madu rambutan, madu sono, madu akasia, madu karet.

3. Cara Kerja

a. Proses Ekstraksi

Ekstraksi madu multiflora dan monoflora dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair dalam perbandingan (madu: pelarut = 1:1). 150 ml madu multiflora dan monoflora dimasukkan ke corong pisah kemudian ditambahkan 150 ml aseton atau n-heksan sehingga diperoleh hasil (Campuran madu +aseton dan Campuran madu +n-heksan). Setelah itu masing-masing campuran dikocok soker selama 3 jam.

Selanjutnya masing-masing larutan dipindahkan dari corong pisah ke dalam gelas beker yang berbeda kemudian didiamkan selama 12-24 jam untuk untuk memisahkan fase organik dengan residu secara sempurna. Setelah itu fase organik dan residu dipisahkan dengan bantuan pipet, kemudian dipekatkan menggunakan oven dengan suhu 80°C

b. Pembuatan Variabel Konsentrasi

Pembuatan variabel konsentrasi pada uji ini adalah dilakukan dengan menggunakan madu tanpa perlakuan ekstraksi dengan besaran konsentrasi sebesar 20%, 25%, 50%, dan 100% sehingga digunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Volume zat terlarut}}{\text{Volume zat terlarut} + \text{volume pelarut}}$$

$$\frac{\text{Volume zat terlarut}}{\text{Volume zat terlarut} + \text{volume pelarut}} \times 100\%$$

Semua larutan seri konsentrasi dibuat dalam 5 ml. Sehingga volume zat terlarut yang digunakan pada masing-masing besaran seri konsentrasi 20%, 25%, 50%, dan 100% adalah berturut-turut 1 ml, 1,25 ml, 2,5 ml, dan 5 ml



Gambar 1 Pembuatan Seri Konsentrasi



c. Uji Karakteristik dan Fitokimia Madu

1. Uji Organoleptis bata ini juga menunjukkan bahwa



Gambar 2. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan cara uji *hedonik*. Uji organoleptis dilakukan dengan bantuan 15 orang panelis yang merupakan mahasiswa Universitas Ma Chung. Adapun syarat yang harus dimiliki oleh masing-masing panelis sebelum melakukan uji diantaranya adalah panelis harus dalam kondisi sehat, panelis akan ditunjuk secara acak dan tanpa memperhatikan jenis kelamin. Selanjutnya panelis akan diminta jawaban dari pertanyaan mengenai rasa, warna, dan viskositas atau kekentalan pada masing-masing madu (Etnawati et al., 2019)

2. Uji Kadar Air



Gambar 3. Uji Kadar

Masing-masing madu ditimbang sebanyak 1-2 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang sudah diketahui beratnya. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105- 110°C selama 2 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 10 menit. Setelah itu sampel ditimbang kembali dan dimasukkan ke dalam oven selama 1 jam. Perlakuan ini dilakukan berulang kali hingga diperoleh hasil penurunan penimbangan konstan (selisih penimbangan berturut-turut < 0,2 mg) yang selanjutnya dihitung kadar air sampel dengan persamaan

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat bahan (awal - akhir)}}{\text{Berat bahan awal}} \times 100\%$$

3. Uji Kadar Glikosida

Uji Glikosida dilakukan dengan cara memasukkan 2,5 ml larutan benedict ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi sampel. Setelah itu campuran benedict dan sampel dididihkan selama 2 menit atau masukkan ke dalam penangas air mendidih selama 5 menit, lalu didinginkan perlahan-lahan. Kemudian lakukan pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada campuran tersebut, apakah ada endapan dan bagaimana warnanya. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna hijau, kuning atau merah. Apabila terjadi perubahan warna larutan hijau sampai merah

sampel positif mengandung glikosida.

4. Uji Laju Alir



Gambar 4. Uji Laju Alir

Pengujian laju alir madu dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan dari madu tersebut, yang masing-masing tergantung pada kadar air masing-masing madu dan suhu pada saat pengujian. Madu dengan kadar air tinggi mengalir dengan kecepatan lebih tinggi dibandingkan dengan yang lebih rendah. Komposisi madu umumnya memiliki pengaruh yang kecil terhadap viskositas madu. Pengukuran viskositas dilakukan dengan bantuan viskometer dengan cara sampel diambil sebanyak 100 ml letakkan pada gelas beker lalu dilakukan pengukuran menggunakan viskometer stormer.

5. Uji PH



Gambar 5. Uji PH

Uji PH dilakukan untuk mengetahui PH masing-masing dari jenis madu. Uji PH ini dilakukan dengan cara 50 ml sampel diletakkan dalam gelas beker kemudian sampel di ukur kadar keasamannya dengan bantuan pH meter dengan cara mencelupkan PH meter ke dalam masing-masing sampel dan tunggu 2-3 menit hingga angka yang tertera di PH meter stabil, kemudian lakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

6. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara memasukkan 2 mL sampel pada 5 tabung reaksi yang berbeda, kemudian ditambahkan 3 tetes reagen Mayer atau *Dragendorff*. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada campuran sampel dan reagen mayer, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna kuning. Sedangkan pada campuran sampel dan reagen *Dragendorff*, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna oranye kemerahan menandakan.

7. Uji Flavonoid

Uji Flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan 3 mg logam Mg dan beberapa tetes HCl pekat pada masing-masing sampel. Setelah itu dilakukan pengamatan, hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid, namun apabila perubahan warna yang terbentuk adalah warna kuning jingga, maka menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.

8. Uji Tanin

Uji Tanin dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL akuades dan 3 tetes $FeCl_3$ pada masing-masing sampel uji. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada sampel, hasil positif tanin ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna hijau atau hitam kebiruan pada sampel.

9. Uji Steroid

Uji Steroid dilakukan dengan cara meneteskan 2 tetes sampel uji pada plat tetes, kemudian ditambahkan 2 tetes asetat anhidrat, 2 tetes kloroform dan diteteskan H_2SO_4 . Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada sampel, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan.

10. Uji Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan cara menambahkan akuades dalam tabung reaksi yang berisi sampel uji, selanjutnya dikocok menggunakan vortex. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada sampel, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil pada sampel uji.

d. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Penyiapan Media Nutrien Agar dan Nutrien Broth

Bakteri uji diambil 1-2 ose dan masukkan ke dalam media



Gambar 6. Pembuatan Media Nutrien Agar dan Nutrien Broth

Timbang media NA 14 gram, kemudian larutkan 14gram *nutrient agar* di 500 ml akuades pada labu erlenmeyer setelah itu diaduk hingga homogen dan panaskan sampai mendidih selama ± 10 menit. Setelah itu media NA disterilkan dalam *autoclave* pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit, selanjutnya media didinginkan hingga hangat lalu tuangkan ke dalam cawan petri sebanyak 10-20 ml.

Timbang media NB 13 gram dilarutkan dalam 1 liter akuades selanjutnya aduk hingga homogen dan panaskan sampai mendidih selama ± 10 menit. Kemudian lakukan sterilisasi dengan memasukkan media dalam *autoclave* pada suhu $121^\circ C$

Kontrol media yang digunakan dalam penelitian ini

tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu tunggu hingga media agak hangat lalu tuangkan *nutrient broth* tersebut ke dalam tabung reaksi.

2. Sterilisasi Alat dan Bahan



Gambar 7. Proses Sterilisasi Alat dan Bahan

Lakukan pembungkusan alat dan bahan yang akan digunakan menggunakan kertas perkamen, kemudian masukkan ke dalam *autoclave*, lakukan sterilisasi dengan suhu $121^\circ C$ tekanan 1 atm selama 15 menit.

3. Penyiapan Inokulum Bakteri



Gambar 8. Penyiapan Inokulum Bakteri

Nutrient Broth (NB) steril atau digores ke media *Nutrient Agar* (NA) miring setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$, sehingga diperoleh stok bakteri.

4. Pembuatan Kontrol Media

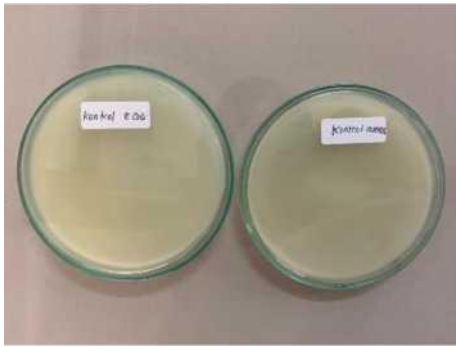


Gambar 9. Pembuatan Kontrol Media

adalah dengan menggunakan 15-20 ml NA yang dituangkan pada cawan petri dan ditunggu hingga media memadat, kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu $37^\circ C$. Pembuatan kontrol media dimaksudkan untuk melihat apakah pada media menunjukkan pertumbuhan bakteri atau tidak.

5. Pembuatan Kontrol Pertumbuhan





Gambar 10. Pembuatan Kontrol Pertumbuhan

Kontrol pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam penelitian adalah dengan menggunakan 50pL NB dan 50pL suspensi bakteri kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pembuatan kontrol pertumbuhan dimaksudkan untuk membuktikan dan menjamin bahwa bakteri yang digunakan dapat tumbuh dan berkembang biak.

6. Pembuatan Kontrol Negatif

Siapkan media yang sudah di sterilkan setelah itu lakukan penginokulasian bakteri kemudian masukkan pelarut masukkan dalam cawan petri, tutup dengan aluminium foil, kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Kontrol negatif digunakan untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari pelarut.

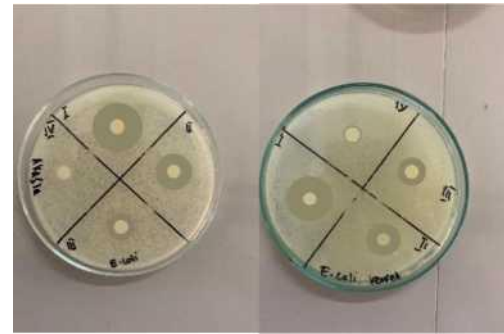
7. Pembuatan Kontrol Positif

Siapkan media yang sudah di sterilkan setelah itu lakukan penginokulasian bakteri kemudian masukkan larutan stok kloramfenikol (kloramfenikol 250 mg dibuka kemudian timbang sebanyak 30 mg. Setelah itu larutkan serbuk dengan 5 mL akuades hingga diperoleh larutan stok kloramfenikol 250pg/50pL) selanjutnya inkubasi larutan stok kloramfenikol selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Pemberian kloramfenikol sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan antibiotik golongan fenikol yang bekerja menghambat sintesis protein dari bakteri, yang memiliki spektrum luas karena efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif yang aerob dan anaerob. Selain itu menurut penelitian yang telah dilakukan (Amrullah, 2015) kloramfenikol memiliki sensitivitas yang lebih baik terhadap *Escherichia coli* multiresisten dan *Staphylococcus aureus* multiresisten dibandingkan dengan antibiotik golongan penisilin, sefalosporin, vancomisin, dan lain-lain. Pembuatan kontrol positif dilakukan untuk membandingkan adanya aktivitas antibakteri dari obat yang digunakan dengan zat yang diteliti.

8. Uji Difusi Cakram

Uji difusi cakram digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri pada madu yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat. Setelah diketahui zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi tertentu, selanjutnya dilakukan uji dilusi cair untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang dilakukan dengan berbagai seri konsentrasi berdasarkan konsentrasi paling efektif pada uji difusi cakram.



Gambar 11. Uji Difusi Cakram

Metode difusi cakram dilakukan dengan cara kedua suspensi yang mengandung bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diinokulasi dalam media Nutrient Agar (NA). Setelah mengeras, dibuat garis pada luar cawan untuk membagi wilayah cawan menjadi 4 bagian, kemudian dimasukkan masing-masing kertas cakram yang mengandung masing-masing madu multiflora, madu rambutan, madu randu, madu akasia, madu sono, madu mente, madu karet yang mengandung kurang lebih 20 pl. Setelah itu diinkubasi pada suhu $\pm 37^\circ$ C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, akan terbentuk zona hambat atau zona bening yang selanjutnya akan diukur diameternya (Wulandari, 2017).

9. Uji Dilusi Cair



Gambar 12. Hasil Uji Dilusi Cair

Metode dilusi agar cair (serial dilution): metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum) dan MBC (*minimum bactericidal concentration*) atau KBM (Kadar Bunuh Minimum). Dilusi cair ini dilakukan dengan menggunakan media *Nutrien Broth* (NB) dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis sebelum dan sesudah perlakuan inkubasi untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri uji. 4 ml media NB steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0.5 ml madu dengan berbagai jenis dengan berbagai konsentrasi (10-100 mg/ml). Setelah itu ditambahkan 0.5 ml suspensi bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang telah disesuaikan dengan larutan standard 0.5 *Mc. Farland*.

Selanjutnya tabung reaksi diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis ($\lambda=480$ nm) dan dilanjutkan dengan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah inkubasi, tabung reaksi diukur kembali absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis ($\lambda=480$ nm). Nilai KHM diperoleh dengan cara membandingkan hasil absorbansi setelah inkubasi dikurangi absorbansi sebelum inkubasi. Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri dapat ditunjukkan dengan tidak



adanya kekeruhan atau hasil nilai OD < 0 (Fatisa, 2013)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN A. Hasil Ekstraksi



Gambar 13. Hasil Ekstraksi Madu

Pada pemisahan ini digunakan pelarut aseton yang memiliki sifat semi polar, dan n-hexane yang memiliki sifat non polar. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan corong pisah sehingga menghasilkan fasa residu/cair pada bagian atas, dan fasa sedimen/endapan pada bagian bawah. Fasa residu/cair yang dihasilkan pada masing-masing madu dengan pelarut aseton dan n-hexane masing-masing memiliki warna yang bening, sedangkan fasa sedimen/endapan yang dihasilkan memiliki warna kuning kecoklatan hingga coklat kehitaman

Tabel 1. Hasil Ekstraksi

Jenis Madu	Jenis Pelarut	Fasa Residu/cair	Fasa Sedimen/endapan
Akasia	Aseton	Cairan berwarna bening	Coklat Kehitaman
	n- hexane	Cairan berwarna bening	
Karet	Aseton	Cairan berwarna bening	Kuning Kecoklatan
	n- hexane	Cairan berwarna bening	
Mente	Aseton	Cairan berwarna bening	Kuning Kecoklatan
	n- hexane	Cairan berwarna bening	
Multiflora	Aseton	Cairan berwarna bening	Kuning Keemasan
	n- hexane	Cairan berwarna bening	
Rambutan	Aseton	Cairan berwarna bening	Coklat Kehitaman

B. Uji Karakteristik dan Fitokimia Madu

Pada penelitian ini uji karakteristik dan fitokimia dilakukan untuk mengetahui karakteristik khas dan jenis senyawa yang terkandung pada suatu ekstrak madu sebelum

	n- hexane	Cairan berwarna bening	
Randu	Aseton	Cairan berwarna bening	Kuning Kecoklatan
	n- hexane	Cairan berwarna bening	
Sono	Aseton	Cairan berwarna bening	Kuning Keemasan
	n- hexane	Cairan berwarna bening	

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa ekstrak madu yang dihasilkan pada masing-masing madu menunjukkan fasa residu yang tetap bening dan tidak menunjukkan perbedaan warna pelarut antara sebelum ekstraksi dan sesudah proses ekstraksi. Begitu pula dengan fasa sedimen yang dihasilkan pada masing- masing madu menunjukkan bahwa warna yang dihasilkan sebelum dan sesudah proses ekstraksi tetap sama dan tidak menunjukkan perbedaan warna, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada reaksi kimia yang terjadi antara pelarut yang digunakan dengan masing-masing madu.

dilakukan proses isolasi dan penelitian lebih lanjut mengenai uji antibakteri. Uji karakteristik yang dilakukan pada masing-masing madu diantaranya seperti uji organoleptis, kadar air, PH, dan viskositas (kekentalan). Sedangkan untuk uji fitokimia yang dilakukan diantaranya uji alkaloid, flavonoid, glukosa, saponin, steroid, dan tanin pada masing-masing dari ekstrak madu.

1. Uji Organoleptis

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptis

Jenis Sampel Madu	Pengamatan Sampel Organoleptis		
	Warna	Rasa	Bau
	Akasia	Coklat kehitaman	Manis, legit, asam diakhir
Karet	Kuning kecoklatan	Asam manis (dominan asam)	Manis khas
Mente	Kuning kecoklatan	Manis khas	Manis, harum khas
Multiflora	Kuning Keemasan	Manis, Harum	Asam diawal tapi Manis diakhir
		Khas Bunga	
Rambutan	Coklat kehitaman	manis khas, sedikit pahit	Manis khas rambutan

Randu	kuning kecoklatan	Manis khas	Manis khas randu
Sono	Kuning keemasan	Manis	Manis

Berdasarkan tabel uji organoleptis diatas menunjukkan bahwa masing-masing maadu memiliki karakteristik yang berbeda sesuai dengan nektar bunga yang diambilnya. Pada madu akasia dan madu rambutan, madu ini menunjukkan warna coklat kehitaman dan cenderung lebih gelap dibandingkan jenis madu yang lainnya. Sedangkan pada madu multiflora dan madu sono memiliki warna kuning keemasan dan cenderung lebih terang dibandingkan dengan jenis madu yang lainnya. Perbedaan warna yang dihasilkan pada masing-masing madu dapat diakibatkan oleh jenis bunga yang diambil oleh lebah, kadar HMF (*Hidroksimetilfurfural*) yang terkandung pada masing- masing jenis madu, letak geografis peternakan madu, iklim dan cuaca, dan lain-lain.

Madu biasanya memiliki aroma yang manis, namun untuk beberapa jenis madu tertentu memiliki aroma yang khas dan tidak dimiliki oleh madu lain. Perbedaan bau atau aroma yang dihasilkan oleh masing-masing madu dapat dipengaruhi oleh jenis bunga atau nektar yang diambil oleh lebah, iklim atau cuaca, periode panen, dan lain-lain. Begitu pula dengan rasa yang dihasilkan oleh masing-masing madu yang memiliki rasa yang khas dan tidak dimiliki oleh madu lain. Perbedaan rasa yang dimiliki oleh masing-masing madu dapat diakibatkan oleh jenis bunga atau nektar yang diambil oleh lebah, iklim atau cuaca, periode panen, PH madu, letak geografis peternakan madu, dan lain-lain

2. Uji PH

Tebel 3. Hasil Uji PH

Jenis Madu	PH
Akasia	3.60
Karet	3.75
Mente	3.65
Multiflora	3.82
Rambutan	3.76
Randu	3.79
Sono	3.42

Berdasarkan tabel hasil uji Ph diatas maka dapat disimpulkan bahwa masing-masing madu memiliki PH yang asam karena berada pada rentang 3.2-4.5. Secara alami madu memiliki beberapa senyawa asam seperti asam glukonat, asam asetat, asam sitrat, asam laktat, asam oksalat, asam butirat, dan asam formiat. Senyawa asam ini pula yang menjadikan madu memiliki Ph asam dan memiliki rasa yang sedikit asam. Ph memiliki peranan penting dalam memperbaiki sistem pencernaan yang terganggu, selain itu PH yang asam memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi kadar asam maka akan semakin baik pula dalam mempengaruhi pertumbuhan bakteri, namun apabila kadar madu terlalu asam maka madu tersebut tidak dapat dikonsumsi oleh manusia(Ijong, Frans G dan Dien, 2011)

3. Uji Kadar Air

Tabel 4. Hasil Uji Kadar Air

Jenis Sampel Madu	Kadar Air (%)
Akasia	1.270179
Karet	0.5809
Mente	0.952
Multiflora	0.68717
Rambutan	1.12333
Randu	1.14625
Sono	0.63684

Berdasarkan tabel hasil uji kadar air di atas maka dapat disimpulkan bahwa kadar air yang terkandung pada madu memenuhi standar yaitu tidak lebih dari 22%. Kuantitas kadar air dapat mempengaruhi kualitas dari suatu madu. Semakin tinggi kadar air yang terkandung pada madu maka akan semakin mudah madu tersebut mengalami fermentasi. Konsentrasi air yang terkandung dalam suatu madu berbeda-beda karena dipengaruhi oleh cuaca atau iklim, periode panen, letak geografis peternakan, dan lain-lain (Hudri, 2014).

4. Uji Laju Alir

Tabel 5. Hasil Uji Laju Alir

Berat (g)	Kecepatan putar			
	Akasia	Karet	Mente	Multiflora
150	7.413521	13.15789	10.58821	9.8900882
200	13.31357	21.84455	19.23077	16.853933
250	18.59496	30.40561	26.78571	23.560086
300	24.32419	40.54054	35.71429	30.612245
350	30.61224	48.91251	42.85714	37.5

Tabel 6. Lanjutan Hasil Uji Laju Alir

Berat (gram)	Kecepatan putar		
	Rambutan	Randu	Sono
150	9.127808	13.08136	17.57819
200	15.30612	24.32431	28.48083
250	20.3619	33.33333	41.66667
300	27.1086	41.66667	56.2493
350	31.69036	50	70.3136

Berdasarkan tabel hasil perhitungan kecepatan laju alir yang diperoleh diatas dapat disimpulkan bahwa madu akasia merupakan madu yang memiliki kecepatan laju alir paling lambat dibandingkan jenis madu yang lain yaitu sebesar 7.413521 rpm pada beban 150 gram, 13.31357 rpm pada beban 200 gram, 18.59496 rpm pada beban 250 gram, 24.32419 rpm pada beban 300 gram,



dan 30.61224 rpm pada beban 350 gram. Sedangkan kecepatan laju alir cairan madu yang memiliki kecepatan paling cepat dibandingkan yang lain adalah madu sono. Madu sono memiliki kecepatan laju alir sebesar 17.57819 rpm pada beban 150 gram, 28.48083 rpm pada beban 200 gram, 41.66667 rpm pada beban 250 gram, 56.2493 rpm pada beban 300 gram, dan 70.3136 rpm pada beban 350 gram.

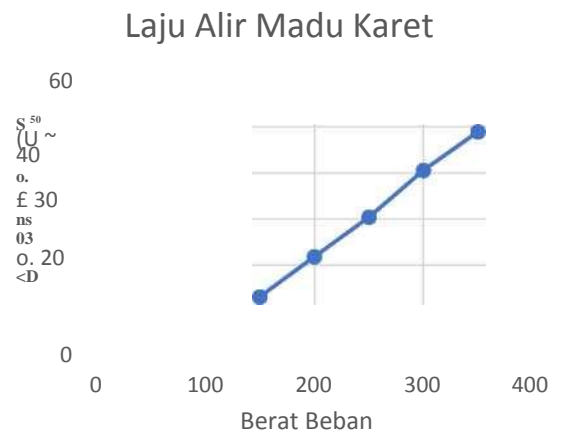


Gambar 16 Grafik Laju Alir Madu

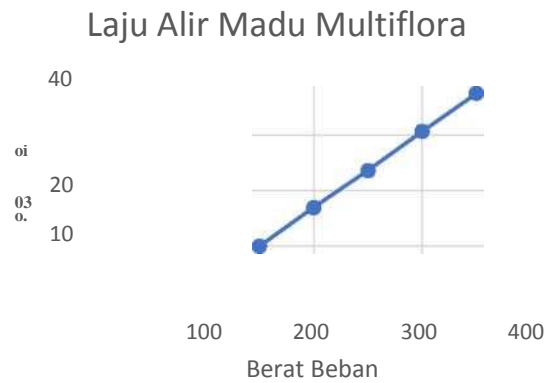
Berdasarkan grafik hasil dari pengujian kecepatan laju alir pada masing-masing madu dapat disimpulkan bahwa pada masing-masing madu memiliki kurva aliran plastis yang tidak melalui titik (0,0) akan tetapi memotong titik sumbu *shearing stress* pada suatu titik tertentu (harga yield). Oleh sebab itu masing-masing madu yang diuji memiliki tipe aliran plastis. Ciri khas dari aliran plastis yaitu cairan plastis tidak akan mengalir sampai *shearing stress* dicapai sebesar *yield value* tersebut. Aliran plastis biasanya diaplikasikan pada suspensi yang memiliki partikel-partikel besar (terflokulasi), sehingga apabila terjadi pengendapan, tidak akan terbentuk endapan yang rapat dan ketika dikocok akan segera terdispersi dalam pembawanya.



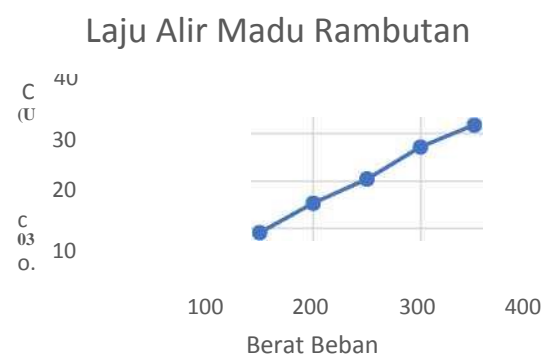
Grafik 1. Laju Alir Madu Akasia



Grafik 2. Laju Alir Madu Karet



Grafik 3. Laju Alir Madu Multiflora



Grafik 4. Laju Alir Madu Rambutan





Grafik 5. Laju Alir Madu Randu



Grafik 7. Laju Alir Madu Akasia



5. Uji Fitokimia

Tabel 7. Hasil Uji Fitokimia

Jenis Uji	Jenis Madu			
	Akasia	Karet	Mente	Multiflora
Alkaloid	^	^	^	^
Flavonoid	^	^	^	^
Glikosida	^	^	^	^
Saponin	^	^	^	^
Steroid	-	-	-	-
Tanin	-	-	-	-

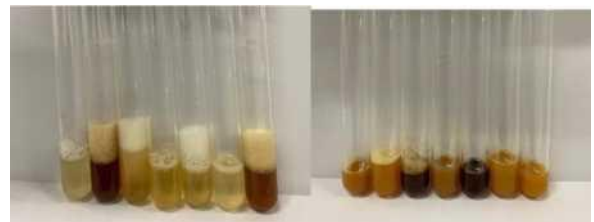
Positif flavonoid dibuktikan dengan terbentuknya warna kemerahan setelah dilakukan penambahan logam Mg, HCl, dan etanol pada sampel madu. Flavonoid adalah salah satu senyawa polar ditunjukkan dengan adanya gugus hidroksil, oleh sebab itu flavonoid akan larut pada pelarut

Tabel 8. Lanjutan Hasil Uji Fitokimia

Jenis Uji	Jenis Madu		
	Rambutan	Randu	Sono
Alkaloid	^	^	^
Flavonoid	^	^	^
Glikosida	^	^	^
Saponin	^	^	^
Steroid	-	-	-
Tanin	-	-	-

Grafik 6. Laju Alir Madu Mente

Berdasarkan tabel hasil uji fitokimia diatas diperoleh bahwa masing-masing madu positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, dan saponin. Sedangkan pada uji steroid dan tanin yang telah dilakukan pada masing-masing madu menunjukkan negatif steroid, dan tanin. Positif alkaloid yang dilakukan dengan menggunakan reagen dragendorf ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning pada dasar tabung reaksi. Endapan yang terbentuk merupakan senyawa kalium-alkaloid yang terbentuk karena adanya senyawa nitrogen yang digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam K (Dewi et al., 2017).



Gambar 17. Uji Fotokimia.

polar juga. Terbentuknya warna merah atau jingga ini terjadi karena adanya reduksi dari inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga membentuk garam flavilium yang disebabkan karena penambahan logam Mg dan HCl. Positif glikosida dan saponin pada masing-masing madu ditunjukkan dengan terbentuknya busa. Kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya K (Dewi et al., 2017)..

C. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada ekstrak madu dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram dan dilusi cair.

1. Uji Difusi Cakram

a. Uji Difusi Cakram *Escherichia coli*

Pada uji difusi cakram yang telah dilakukan pada berbagai jenis madu adanya aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat/ zona bening pada media setelah diinkubasi kemudian diukur dengan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan millimeter (mm). Sedangkan tidak terbentuknya zona hambat/ zona bening pada koloni menunjukkan bahwa pada madu tersebut tidak terdapat aktivitas antibakteri. Luas diameter zona hambat/ zona bening menunjukkan tingkatan aktifitas antibakteri pada madu tersebut yang berarti bahwa semakin luas zona hambat/ zona bening yang terbentuk maka semakin tinggi pula aktifitas antibakteri pada madu tersebut, begitu pula sebaliknya.

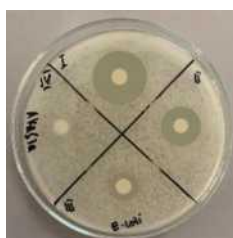


Tabel. 9. Hasil Rata-rata Pengukuran Zona Hambat *Escherichia coli*

Kadar	Zona Hambat Jenis Madu (mm)				
	Akasia	Karet	Mente	Multi-flora	Rambutan
20	0	5.76	0	0	0
25	5.31	6.86	5.76	4.66	4.36
50	11.2	14.93	11.5	11.43	8.53
100	22.76	23.16	21.6	20.53	20.23

Tabel. 10. Lanjutan Hasil Rata-rata Pengukuran Zona Hambat *Escherichia coli*

Kadar	Zona Hambat Jenis Madu (mm)		Kontrol +	Kontrol -
	Randu	Sono		
20	3.4	0	20.53	0
25	6.03	5.6		
50	14.43	11.43		
100	22.63	21.23		



Gambar 18. Hasil Uji Difusi Cakram *Escherichia coli*

Hasil yang diperoleh pada pengujian aktivitas antibakteri pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, dan madu sono dengan metode difusi cakram kertas secara kualitatif pada bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 20%, 25%, 50%, dan 100% diperoleh hasil bahwa madu karet dan madu randu memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dari konsentrasi 20% hingga konsentrasi 100%. Sedangkan pada madu akasia, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, dan madu sono memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25% hingga konsentrasi 100%.

Zona hambat yang terbentuk pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu randu, dan madu sono konsentrasi 20% -50 % serta madu rambutan konsentrasi 25%-100% menunjukkan bahwa masing- masing madu tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lebih efektif daripada kontrol positif karena zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif yaitu <20.53 mm.

Sedangkan pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu randu, dan madu sono konsentrasi 100% menunjukkan hasil bahwa memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dikarenakan zona hambat yang terbentuk pada madu tersebut memiliki diameter yang lebih besar dibandingkan kontrol positif yaitu >20.53. Kontrol negatif yang dilakukan pada uji ini menunjukkan hasil 0 yang membuktikan bahwa pelarut yang digunakan pada penelitian ini tidak memiliki aktivitas antibakteri. Gambar hasil uji difusi cakram pada *Escherichia*

coli dapat dilihat pada lampiran F Hasil Uji Antibakteri.

b. Uji Difusi Cakram *Staphylococcus aureus*

Tabel. 11. Hasil Rata-rata Pengukuran Zona Hambat *Staphylococcus aureus*

Kadar	Zona Hambat Jenis Madu (mm)				
	Akasia	Karet	Mente	Multi-flora	Rambutan
20	0	0	0	0	0
25	5.1	6.43	5.87	4.67	4.37
50	10.76	11.96	11.23	11.47	8.53
100	21.17	23.83	21.17	20.43	19.13

Tabel. 12. Lanjutan Hasil Rata-rata Pengukuran Zona Hambat *Staphylococcus aureus*

Kadar	Zona Hambat Jenis Madu (mm)		Kontrol +	Kontrol -
	Randu	Sono		
20	0	0	20.6	0
25	6.2	5.17	-	-
50	14.4333	11.17	-	-
100	22.13	20.17	-	-



Gambar 19. Hasil Uji Difusi Cakram *Staphylococcus aureus*

Hasil yang diperoleh pada pengujian aktivitas antibakteri pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, dan madu sono dengan metode difusi cakram kertas secara kualitatif pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 25%, 50%, dan 100% diperoleh hasil bahwa masing-masing madu memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25% hingga konsentrasi 100%. Zona hambat yang terbentuk pada madu akasia, madu karet, madu mente, dan madu randu, konsentrasi 25% -50 % serta madu, multiflora, madu rambutan, dan madu sono konsentrasi 25%-100% menunjukkan bahwa masing-masing madu tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lebih efektif daripada kontrol positif karena zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif yaitu <20.6 mm (Hudri, 2014)..

Sedangkan pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu randu, dan madu sono konsentrasi 100% menunjukkan hasil bahwa memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dikarenakan zona hambat yang terbentuk pada madu tersebut memiliki diameter yang lebih besar dibandingkan kontrol positif yaitu >20.6. Kontrol negatif yang dilakukan pada uji ini



menunjukkan hasil 0 yang membuktikan bahwa pelarut yang digunakan pada penelitian ini tidak memiliki aktivitas antibakteri (Prayoga, 2013).

2. Uji Dilusi Cair

Pada pengukuran kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM), variasi konsentrasi terkecil diperoleh dari pengujian aktivitas antibakteri secara kualitatif dengan metode difusi cakram. Dilusi cair memiliki prinsip pengenceran konsentrasi dari senyawa uji yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri untuk mengamati KHM dan KBM. Pada pengujian dengan metode sebelumnya diperoleh hasil bahwa konsentrasi 100% memiliki efektivitas yang lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif, oleh sebab itu dibuat seri konsentrasi yang lebih kecil dari 100% yaitu 50%, 25% dan 20%.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, dan madu sono dengan metode dilusi cair kertas secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 480 nm. Digunakan spektrofotometer dikarenakan spektrofotometer dapat mengukur tingkat kepekatan sel dalam suspensi dengan *Optical Density* (OD) atau biasa dikenal dengan cahaya yang masuk dan disebar. Pengukuran ini dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi, kemudian dilakukan perhitungan dengan mengukur selisih hasil absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Selain itu jumlah koloni bakteri dapat diukur dengan membandingkan kekeruhan atau turbiditas dari kultur bakteri tersebut. Semakin keruh suatu kultur menunjukkan semakin banyak pula jumlah sel koloninya. Adapun hasil praktikum dilusi cair terdapat pada Tabel Hasil Dilusi Cair *Escherichia coli* dan Tabel Hasil Uji Dilusi Cair *Staphylococcus aureus*.

Hasil pengukuran KHM dan KBM yang telah dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* diperoleh nilai absorbansi pada konsentrasi 20%, 25%, 50%, dan 100% bervariasi. Nilai AOD yang diperoleh pada madu akasia, madu mente, madu multiflora, dan madu sono dengan konsentrasi 50% serta 100% menunjukkan nilai <0. Hal ini menunjukkan bahwa pada madu tersebut dengan konsentrasi 50-100% memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada madu karet dan madu randu kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sudah terlihat pada konsentrasi 25-100%. Namun, pada madu rambutan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri hanya terjadi pada konsentrasi 100%.

Nilai AOD inilah yang menunjukkan bahwa ada atau tidaknya pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* pada media tersebut. Nilai AOD > 0 ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut madu tersebut belum dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Dari data yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa nilai KHM yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh pada madu akasia, madu mente, madu multiflora, dan madu sono adalah pada konsentrasi 50%, madu karet dan madu randu pada konsentrasi 25%, dan madu rambutan pada konsentrasi 100%.

Selanjutnya dilakukan pengujian lanjutan untuk

mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang dapat membunuh bakteri *Escherichia coli* diperoleh hasil bahwa pada madu karet dan madu randu memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 50%. Sedangkan pada madu akasia, madu mente, madu multiflora, dan madu sono kemampuan dalam membunuh bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 100%. Namun pada madu rambutan pada konsentrasi terbesar juga tidak ditemui kemampuan dalam membunuh bakteri, sehingga dapat disimpulkan bahwa madu rambutan hanya memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, namun tidak memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri (Fatisa, 2013).

Berdasarkan hasil pengukuran KHM dan KBM yang telah dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh absorbansi pada konsentrasi 20%, 25%, 50%, dan 100% bervariasi. Nilai AOD yang diperoleh pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu randu, dan madu sono dengan konsentrasi 25%, 50% serta 100% menunjukkan nilai <0. Hal ini menunjukkan bahwa pada madu tersebut dengan konsentrasi 25-100% memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada madu rambutan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri sudah terlihat pada konsentrasi 50-100%. Namun, pada madu multiflora kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri hanya terjadi pada konsentrasi 100%.

Nilai AOD inilah yang menunjukkan bahwa ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media tersebut. Nilai AOD > 0 menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut madu belum dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Dari data yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa nilai KHM yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu randu dan madu sono adalah pada konsentrasi 25%, madu rambutan pada konsentrasi 50%, dan madu multiflora pada konsentrasi 100%

Selanjutnya dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh hasil bahwa pada madu karet memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%. Sedangkan pada madu akasia, madu mente, madu randu, dan madu sono kemampuan dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50%. Madu rambutan dan multiflora memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri pada konsentrasi 100%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semua memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri, namun dalam konsentrasi yang berbeda (Suryana, 2016).



Tabel 13. Hasil Dilusi Cair *Escherichia coli*

Kadar	Jenis Madu													
	Akasia		Karet		Mente		Multiflora		Rambutan		Randu		Sono	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
20	0.1724	0.4150	0.1200	0.9191	0.8498	0.8669	0.3933	0.4345	0.1446	0.9752	0.8582	0.9602	0.1499	0.8225
25	0.9005	0.6244	0.1995	0.1854	0.1400	0.1400	0.1134	0.2185	0.9082	0.9139	0.1985	0.1311	0.7918	0.7250
50	0.3549	0.3179	0.1711	0.1703	0.2190	0.2074	0.1447	0.4657	0.2979	0.2009	0.1452	0.1284	0.1603	0.1603
100	0.6987	0.6504	0.2726	0.2417	0.5602	0.2780	0.2271	0.2127	0.6086	0.5917	0.3239	0.3173	0.8905	0.1653
AOD 20	0.2426		0.7991		0.0171		0.0411		0.8307		0.1020		0.6726	
25	-0.2761		-0.0141		0.0000		0.1051		0.0057		-0.0674		-0.0668	
50	-0.0370		-0.0009		-0.0117		0.3210		-0.0970		-0.0167		0.0000	
100	-0.0483		-0.0308		-0.2822		-0.0144		-0.0169		-0.0066		-0.7252	
KBM	50	0.5753	25	0.3397	50	0.8249	100	0.1985	100	0.9315	50	0.8462	50	0.7217
		0.5736		0.3426		0.8465		0.0413		0.9354		0.8554		0.7063
		0.5664		0.3462		0.8535		0.0407		0.9394		0.8567		0.6924



Tabel 14. Hasil Uji Dilusi Cair *Staphylococcus aureus*

Kadar	Jenis Madu													
	Akasia		Karet		Mente		Multiflora		Rambutan		Randu		Sono	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
20	0.4058	1.3069	0.4762	1.0212	0.3933	1.2072	0.6034	1.192	0.5286	1.1845	0.636	1.1455	0.444	1.025
25	0.4362	1.0374	0.4385	0.4252	0.4428	1.4296	0.6064	1.0706	0.4617	1.1383	0.5555	0.3526	0.705	1.1577
50	0.5188	0.4782	0.379	0.1251	0.4378	0.3757	0.4229	0.4216	0.5569	1.3632	0.5001	0.4407	0.6831	0.1479
100	0.9882	0.8579	0.344	0.3218	0.4749	0.2061	0.3921	0.3786	0.6561	0.2443	0.4173	0.184	0.5456	0.025
AOD 20	0.9011		0.545		0.8139		0.5886		0.6559		0.5095		0.581	
25	0.6012		-0.0133		0.9868		0.4642		0.6766		-0.2029		0.4527	
50	-0.0406		-0.2539		-0.0621		-0.0013		0.8063		-0.0594		-0.5352	
100	-0.1303		-0.0222		-0.2688		-0.0135		-0.4118		-0.2333		-0.5206	
KBM	100	0.2253	50	0.5162	100	0.4719	100	0.5037		-0.04148	50	0.5611	100	0.7370
		0.2324		0.5181		0.4643		0.5081		0.04074		0.5512		0.7574
		0.2346		0.5165		0.467		0.5066		0.04083		0.5500		0.7675



6. Pembahasan

Berdasarkan hasil uji difusi cakram yang telah dilakukan pada 7 jenis madu (madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, madu sono) dapat disimpulkan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* semua jenis madu memiliki aktivitas mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25%-100%, namun hanya pada konsentrasi 100% lah yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri lebih efektif dibandingkan kontrol positif kecuali pada madu rambutan (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), multiflora dan sono (*Staphylococcus aureus*). Hal ini dibuktikan dengan besarnya diameter zona hambat yang tercantum pada tabel Hasil Rata-rata Pengukuran Zona Hambat *Escherichia coli* dan tabel Hasil Rata-rata Pengukuran Zona Hambat *Staphylococcus aureus*. (Suryana, 2016)..

Berdasarkan hasil uji dilusi cair yang telah dilakukan pada 7 jenis madu (madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, madu sono) dapat disimpulkan bahwa pada bakteri *Escherichia coli* masing-masing madu memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri, namun kemampuan dalam membunuh bakteri hanya ditunjukkan oleh madu madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu randu, madu sono. Sedangkan pengujian pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa masing-masing madu (madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, madu sono) memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan mampu membunuh bakteri pada konsentrasi yang berbeda. Hal ini dibuktikan dengan hasil nilai AOD < 0 yang tercantum pada tabel hasil uji dilusi cair pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Perbedaan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada madu dapat diakibatkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel (jumlah lipid, peptidoglikan, aktivitas enzim) pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang akhirnya mengakibatkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri pada madu terhadap bakteri tersebut (Qadar, Syamsul. Noor, 2015). *Staphylococcus aureus* memiliki struktur dinding sel yang tersusun dari lapisan peptidoglikan yang banyak dan lemak yang relative sedikit. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* ia memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks karena terdiri dari beberapa lapisan diantaranya membrane luar yang berfungsi untuk melindungi peptidoglikan, lapisan dalam (fosfolipid), dan lapisan luar (lipopolisakarida). Perbedaan struktur dinding sel antara *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* mengakibatkan perbedaan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* lebih susah ditembus daripada bakteri *Staphylococcus aureus* (Suryana, 2016)..

D. KESIMPULAN

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan pada madu akasia, madu karet, madu mente, madu multiflora, madu rambutan, madu randu, dan madu sono diperoleh hasil bahwa masing-masing madu positif mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, dan saponin. Pada pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi

cakram yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa masing-masing memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Evahelda, 2017).

Dari data yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa nilai KHM dan KBM yang telah dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* dapat disimpulkan bahwa semua madu memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Namun kemampuan dalam membunuh bakteri tidak dimiliki oleh madu rambutan. Sedangkan hasil yang diperoleh pada pengujian KHM dan KBM pada bakteri *Staphylococcus aureus* masing-masing madu memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan kemampuan dalam membunuh bakteri

DAFTAR PUSTAKA

- Amrullah, A.W., 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Multiresisten Dan *Staphylococcus Aureus* Multiresisten Serta Bioautografinya 151, 10-17.
- Depi, 2019. Perbandingan Kualitas Madu Asli Dan Madu Kemasan Apis Cerana Di AEK Nauli Kabupaten Simalungun Sumatera Utara.
- Dewi, M.A., Kartasasmita, R.E., Wibowo, M.S., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Madu Asli Lebah Asal Indonesia Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Kartika J. Ilm. Farm.* 5, 27-30. <https://doi.org/10.26874/Kjif.V5i1.86>
- Etnawati, K., Adiwirni, D.R., Susetiati, D.A., Sauchi, Y., Ito, H., 2019. The Efficacy Of Skin Care Products Containing Glutathione In Delivering Skin Lightening In Indonesian Women. *Dermatology Reports* 11, 0-3. <https://doi.org/10.4081/Dr.2019.8013>
- Evahelda, 2017. Sifat Fisik Dan Kimia Madu Dari Nektar Pohon Karet Di Kabupaten Bangka Tengah , Indonesia Physical And Chemical Characteristics Of Honey From Rubber Tree Nectar In Central Bangka Regency , Indonesia. *AGRITECH* 37, 363-368.
- Fatisa, Y., 2013. DAYA ANTIBAKTERI ESTRAK KULIT DAN BIJI BUAH PULASAN (*Nephelium Mutabile*) TERHADAP *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* SECARA IN VITRO. *J. Peternak.* 10, 31-38.
- Halim, F., 2017. Hubungan Jumlah Koloni 19, 81-85.
- Hudri, F.A., 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Madu Multiflora Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi*.
- Humaida, R., 2014. Strategy To Handle Resistance Of Antibiotics. *Strateg. To Handle Resist. Antibiot. J Major.* 3, 113-120.
- Ijong, Frans G Dan Dien, H.A., 2011. Karakteristik Bakteri Pereduksi Merkuri *Escherichia Coli* Diisolasi Dari Perairan Pantai Teluk Manado. *J. Perikan. Dan Kelaut. Trop.* VII, 103-108.
- Prayoga, E., 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*.



- Putri, NN Dan Maulida, C.B., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Madu Alami Dan Olahan Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal.Unprimdn.Ac.Id*.
- Qadar, Syamsul. Noor, A.M., 2015. Karakteristik Fisika Kimia Madu Hutan Desa Terasa 37-41.
- Sariadji, K., Sembiring, M., Litbangkes, B., 2019. Kajian Pustaka: Uji Kepekaan Antibiotik Pada *Corynebacterium Diphtheriae*. *J. Biotek Medisiana Indones.* 8, 121-133.
- Sulistiyowati, W., Astuti, C.C., 2016. Buku Ajar Statistika Dasar, 1 Ed. UMSIDA PRESS, Sidoarjo.
- Suryana, S., 2016. Aktivitas Antibakteri Madu Murni Kalimantan Barat Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar. *J. Farm. Bahari* 7, 31-36.
- Wulandari, D.D., 2017. Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, Dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. *J. Kim. Ris.* 2.
- Yuliati, Y., 2017. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosae* Dengan Metode Disk Diffusion. *J. Profesi Med. J. Kedokt. Dan Kesehat.* 11, 7-15.
<https://doi.org/10.33533/jpm.V11i1.206>

