

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU GURAH TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***



**JURUSAN ANALISIS FARMASI DAN MAKANAN  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES JAKARTA II**

**2021**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU GURAH TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

Karya Tulis Ilmiah Ini Diajukan sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Ahli  
Madya Analisis Farmasi dan Makanan



**JURUSAN ANALISIS FARMASI DAN MAKANAN  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES JAKARTA II**

2021

## LEMBAR PERSETUJUAN

Karya Tulis Ilmiah dengan judul  
**“Aktivitas Antibakteri Madu Gurah Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”**

Disusun oleh : Ratna Apriani Putri

NPM P2.48.40.4.18.060

Telah disetujui untuk dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II dalam rangka Ujian Akhir Program untuk memenuhi syarat guna memperoleh Gelar Ahli Madya Analisis Farmasi dan Makanan.

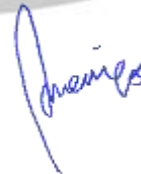
Jakarta, 14 Juni 2021

Pembimbing utama,

Pembimbing Pendamping,



Junie Suriawati, S.Si., M.Si.  
NIP 19690608 199703 2002



Dra. Hj. Mide Yola, M.Pd., M.Farm.  
NIP 19661008 199403 2003

## LEMBAR PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah dengan judul

**“Aktivitas Antibakteri Madu Gurah Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”**

Disusun oleh : Ratna Apriani Putri  
NPM P2.48.40.4.18.060

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II dalam rangka Ujian Akhir Program untuk memenuhi syarat guna memperoleh Gelar Ahli Madya Analisis Farmasi dan Makanan.

Jakarta, 25 Juni 2021

Tim Penguji :

Ketua :

Priyanto Dwi Nugroho, M.Si.  
NIP 19820609 200501 1001

Anggota :

1. Junie Suriawati, S.Si., M.Si.  
NIP 19690608 199703 2002

2. Ai Emalia Sukmawati, S.Farm., M.Si.  
NIP 19640414 198409 2001

Ketua Jurusan



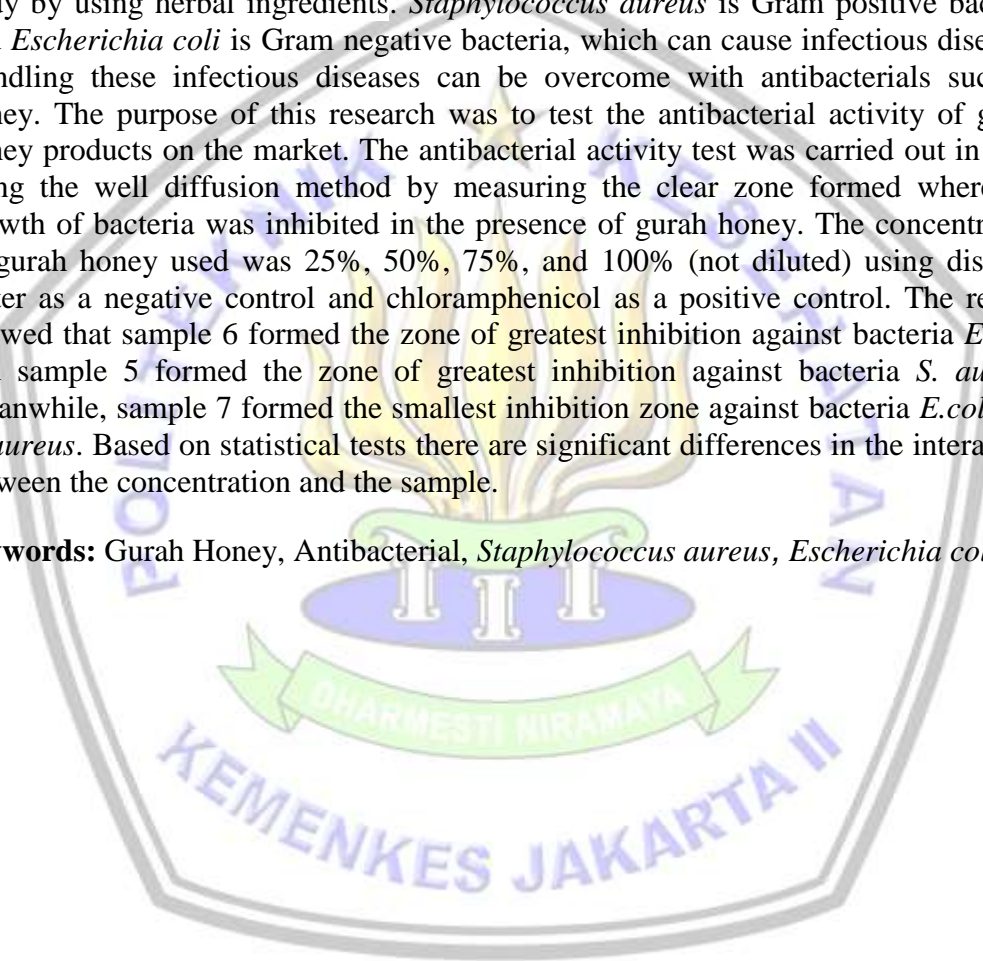
Ai Emalia Sukmawati, S.Farm., M.Si.  
NIP 19640414 198409 2001

## ABSTRACT

Ratna Apriani Putri, “Antibacterial Activity of Gurah Honey Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*”, under the guidance of Junie Suriawati, S.Si., M.Si. and Dra. Hj. Misde Yola, M.Pd., M.Farm, 2021.

Honey is a natural ingredient that can be used as a traditional medicine used by the citizen because of its ability to treat various diseases and other benefits also as an antibacterial substance. Gurah is a traditional medicine to removes mucus from the body by using herbal ingredients. *Staphylococcus aureus* is Gram positive bacteria and *Escherichia coli* is Gram negative bacteria, which can cause infectious diseases. Handling these infectious diseases can be overcome with antibacterials such as honey. The purpose of this research was to test the antibacterial activity of gurah honey products on the market. The antibacterial activity test was carried out in vitro using the well diffusion method by measuring the clear zone formed where the growth of bacteria was inhibited in the presence of gurah honey. The concentration of gurah honey used was 25%, 50%, 75%, and 100% (not diluted) using distilled water as a negative control and chloramphenicol as a positive control. The results showed that sample 6 formed the zone of greatest inhibition against bacteria *E. coli* and sample 5 formed the zone of greatest inhibition against bacteria *S. aureus*. Meanwhile, sample 7 formed the smallest inhibition zone against bacteria *E.coli* and *S. aureus*. Based on statistical tests there are significant differences in the interaction between the concentration and the sample.

**Keywords:** Gurah Honey, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*



## ABSTRAK

Ratna Apriani Putri, “Aktivitas Antibakteri Madu Gurah Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*”, dibawah bimbingan Junie Suriawati, S.Si., M.Si. dan Dra. Hj. Misde Yola, M.Pd., M.Farm, 2021.

Madu merupakan bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat karena kemampuannya dalam mengobati berbagai penyakit serta memiliki khasiat dan manfaat bagi kesehatan diantaranya sebagai zat antibakteri. Gurah adalah cara pengobatan tradisional untuk mengeluarkan lendir dari dalam tubuh dengan menggunakan ramuan herbal. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang keduanya dapat menyebabkan penyakit infeksi. Penanganan penyakit infeksi tersebut dapat diatasi dengan antibakteri seperti madu. Tujuan penelitian ini adalah melakukan uji aktivitas antibakteri terhadap produk madu gurah yang beredar di pasaran. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara in vitro menggunakan metode difusi sumur dengan mengukur zona bening yang terbentuk dimana bakteri terhambat pertumbuhannya dengan adanya madu gurah. Konsentrasi madu gurah yang digunakan 25%, 50%, 75%, dan 100% (tidak diencerkan) digunakan aquadest sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel 6 membentuk zona hambatan paling besar terhadap bakteri *E. coli* dan sampel 5 membentuk zona hambat paling besar terhadap bakteri *S. aureus*. Sedangkan sampel 7 membentuk zona hambatan yang paling kecil terhadap bakteri *E. coli* maupun *S. aureus*. Berdasarkan uji statistik terdapat perbedaan secara signifikan terhadap interaksi antara konsentrasi dengan sampel.

**Kata kunci :** Madu Gurah, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Madu Gurah Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” Karya Tulis Ilmiah ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan guna memperoleh gelar Ahli Madya Analis Farmasi dan Makanan di Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II Program Studi Analisis Farmasi dan Makanan.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Orang tua tercinta dan keluarga atas doa, semangat dan dukungan.
2. Ibu Ai Emalia, S.Farm., M.Si. sebagai Ketua Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II.
3. Ibu Junie Suriawati, S.Si., M.Si. dan Ibu Dra. Hj. Misde Yola, M.Pd., M.Farm. selaku pembimbing utama dan pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, koreksi dan saran hingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.
4. Seluruh Dosen dan Staf Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II.
5. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan doa dan dukungan.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada Karya Tulis Ilmiah ini, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Akhir kata penulis berharap semoga pengujian ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun rekan-rekan lainnya

Jakarta, Juni 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b>	
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>ABSTRAK</b>	
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	i
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Pembatasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.4.1 Tujuan Umum .....	3
1.4.2 Tujuan Khusus .....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
1.5.1 Bagi Mahasiswa .....	4
1.5.2 Bagi Masyarakat.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Landasan Teori .....	5
2.1.1. Madu .....	5
2.1.2. Gurah.....	8
2.1.3. Bakteri.....	9
2.1.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
2.1.3.2. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.1.3.3. <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.1.3.4. Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	13

2.1.4.	Antibakteri.....	13
2.2	Penelitian yang Relevan .....	15
<b>BAB III</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>16</b>
3.1	Waktu dan Lokasi Penelitian.....	16
3.1.1	Waktu Penelitian .....	16
3.1.2	Lokasi Penelitian.....	16
3.2	Prinsip Penelitian.....	16
3.3	Metode Penelitian.....	18
3.4	Prosedur Penelitian.....	18
3.4.1	Penyiapan Sampel .....	16
3.4.2	Penyiapan Kultur Bakteri (Peremajaan Bakteri).....	17
3.4.3	Cara Uji Difusi .....	17
3.5	Prosedur Modifikasi.....	20
3.5.1	Penyiapan Sampel .....	18
3.5.2	Sterilisasi Alat .....	18
3.5.3	Isolasi Bakteri.....	18
3.5.4	Peremajaan Bakteri .....	18
3.5.5	Pembuatan Suspensi.....	19
3.5.6	Cara Uji Difusi .....	19
3.6	Alat dan Bahan .....	20
3.6.1	Alat.....	20
3.6.2	Bahan.....	20
3.7	Rumus Perhitungan .....	22
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1.	Hasil Penelitian.....	23
4.2.	Pembahasan .....	27
<b>BAB V</b>	<b>SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>33</b>
5.1	Simpulan.....	33
5.2	Saran.....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>34</b>
<b>LAMPIRAN</b>		

## DAFTAR TABEL

No.	Nama Tabel	Halaman
1.	Kriteria Daya Hambat Bakteri Menurut Kriteria David Stout.....	13
2.	Data Sampel.....	20
3.	Diameter Zona Hambat Sampel 1 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	23
4.	Diameter Zona Hambat Sampel 2 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	23
5.	Diameter Zona Hambat Sampel 3 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	24
6.	Diameter Zona Hambat Sampel 4 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	24
7.	Diameter Zona Hambat Sampel 5 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	25
8.	Diameter Zona Hambat Sampel 6 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	25
9.	Diameter Zona Hambat Sampel 7 Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	26



## DAFTAR GAMBAR

No.	Nama Gambar	Halaman
1.	Madu.....	5
2.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan Pewarnaan Gram.....	10
3.	Bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan Perwarnaan Gram .....	12
4.	Diagram Zona Hambat Madu Gurah Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> .....	26
5.	Diagram Zona Hambat Madu Gurah Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> .....	27



## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Nama Lampiran	Halaman
1.	Skema Kerja Uji Aktivitas Antibakteri Madu Gurah.....	37
2.	Data SPSS .....	39
3.	Dokumentasi Hasil Pengujian.....	50
4.	Jadwal Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Madu Gurah .....	54
5.	Jumlah Kebutuhan Bahan .....	55



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Sejak awal peradaban manusia, apiterapi atau yang dikenal sebagai terapi lebah dijadikan resep berbagai macam penyakit dan kesakitan, salah satu produk lebah yang digunakan sebagai terapi adalah madu (1). Madu telah dikenal sebagai salah satu bahan untuk dikonsumsi dan mempunyai peranan penting dalam kehidupan. Madu memiliki manfaat dalam berbagai aspek, antara lain dibidang kesehatan, kecantikan dan pangan (2). Madu merupakan substansi alam yang diproduksi oleh lebah madu yang berasal dari nektar bunga atau sekret tanaman yang dikumpulkan oleh lebah madu, diubah dan disimpan di dalam sarang lebah untuk dimatangkan (3).

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 3545:2013, madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu

(*Apis sp.*) dari sari bunga tanaman (flora nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra flora) (4). Madu dikenal sebagai cairan yang menyehatkan dan berkhasiat. Khasiat dari madu diperkenalkan pertama kali oleh Hippocrates (460 SM-370 SM) yang memanfaatkan madu sebagai ekspektoran dan pembersih luka pada kulit maupun bisul (3). Madu dahulu sering dipakai karena mempunyai khasiat yang dapat digunakan sebagai obat, karena kemampuannya dalam mengobati berbagai penyakit seperti bisul, jerawat, batuk, nyeri yang menimpa usus (kolik usus), gangguan irama jantung (aritmia), penyakit kulit eksim, radang amandel sinusitis dan berbagai penyakit lainnya (2).

Gurah adalah cara pengobatan tradisional untuk mengeluarkan lendir dari dalam tubuh dengan menggunakan ramuan herbal. Gurah merupakan pengobatan tradisional yang dilakukan dengan meneteskan ekstrak daun Srigunggu (*Clerodendro Serratum*) ke mulut atau lubang hidung. Dalam perkembangannya, herbal yang digunakan tidak melulu daun Srigunggu. Beberapa terapis menggunakan jenis dedaunan dari tumbuhan berkhasiat lainnya bahkan ada yang menggunakan bumbu-bumbu dapur seperti cabe dan kunyit dan adapula yang mengandung madu

didalamnya. Tujuannya juga mengalami perkembangan, dari yang semula untuk membersihkan tenggorokan kini semua organ yang menghasilkan lendir bisa dibersihkan.

Khasiat dan manfaat madu yang terkandung dalam madu gurah bagi kesehatan diantaranya sebagai zat antibakteri. Madu memiliki zat yang bersifat bakterisidal dan bakteriostatik seperti antibiotik. Bakteri tidak dapat hidup dan berkembang di dalam madu karena madu mengandung unsur kalium yaitu unsur yang mencegah kelembaban sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Madu juga memiliki kandungan fenol, komponen peroksida dan non-peroksida, memiliki viskositas kental, serta pH yang rendah sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sifat hidroskopik yang dimiliki madu dapat menarik air dari lingkungan hidup bakteri yang mengakibatkan bakteri mengalami dehidrasi (5). Madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik bakteri yang berasal dari Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) maupun Gram negatif seperti *Escherichia coli* (*E. coli*). (3).

*S. aureus* merupakan salah satu genus dari *Staphylococcus* yang bersifat patogen utama bagi manusia. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif sebagai bakteri normal pada saluran nafas bagian atas dan kulit manusia namun pada kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi kulit, jaringan otot, tulang dan sendi serta gangguan pada katup jantung (6).

*E. coli* merupakan bakteri patogen yang sering menyebabkan keracunan pangan dan juga menjadi salah satu bakteri indikator sanitasi (7). *E. coli* juga merupakan anggota bakteri normal pada usus, pada kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi usus dengan gejala diare karena daya penetrasi yang merusak sel mukosa, kemampuan memproduksi toksin yang mempengaruhi sekresi cairan di usus, serta meningkatkan daya lekat bakteri (3). Penyakit lain yang sering dijumpai disebabkan oleh *E. coli* adalah infeksi saluran kemih (ISK), sepsis, dan meningitis (2).

Kedua bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit infeksi. Penanganan penyakit infeksi tersebut dapat diatasi dengan antibakteri seperti madu (8). Madu

mengandung zat antibakteri sehingga baik untuk mengobati luka luar dan penyakit infeksi.

Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensinya dalam suatu sediaan, konsentrasinya dalam cairan tubuh, dan jaringan serta kepekaan bakteri terhadap obat. Beberapa uji kepekaan madu terhadap aktivitas antibakteri secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu metode difusi dengan: cakram, parit, dan sumuran/well, sementara metode yang lain adalah metode dilusi yang terdiri dari dilusi padat, dan dilusi cair (9). Uji aktivitas antibakteri madu dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (10).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri madu gurah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah dalam karya tulis ilmiah ini adalah apakah madu gurah yang beredar di pasaran memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ?.

## **1.3 Pembatasan Masalah**

Pengujian ini dibatasi pada uji aktivitas antibakteri dalam madu gurah terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan Umum**

Pengujian ini dilakukan untuk menggambarkan aktivitas antibakteri dalam madu gurah terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### **1.4.2 Tujuan Khusus**

Pengujian ini dilakukan untuk menentukan ada tidaknya aktivitas antibakteri madu gurah terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dan membandingkan berbagai konsentrasi madu gurah terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

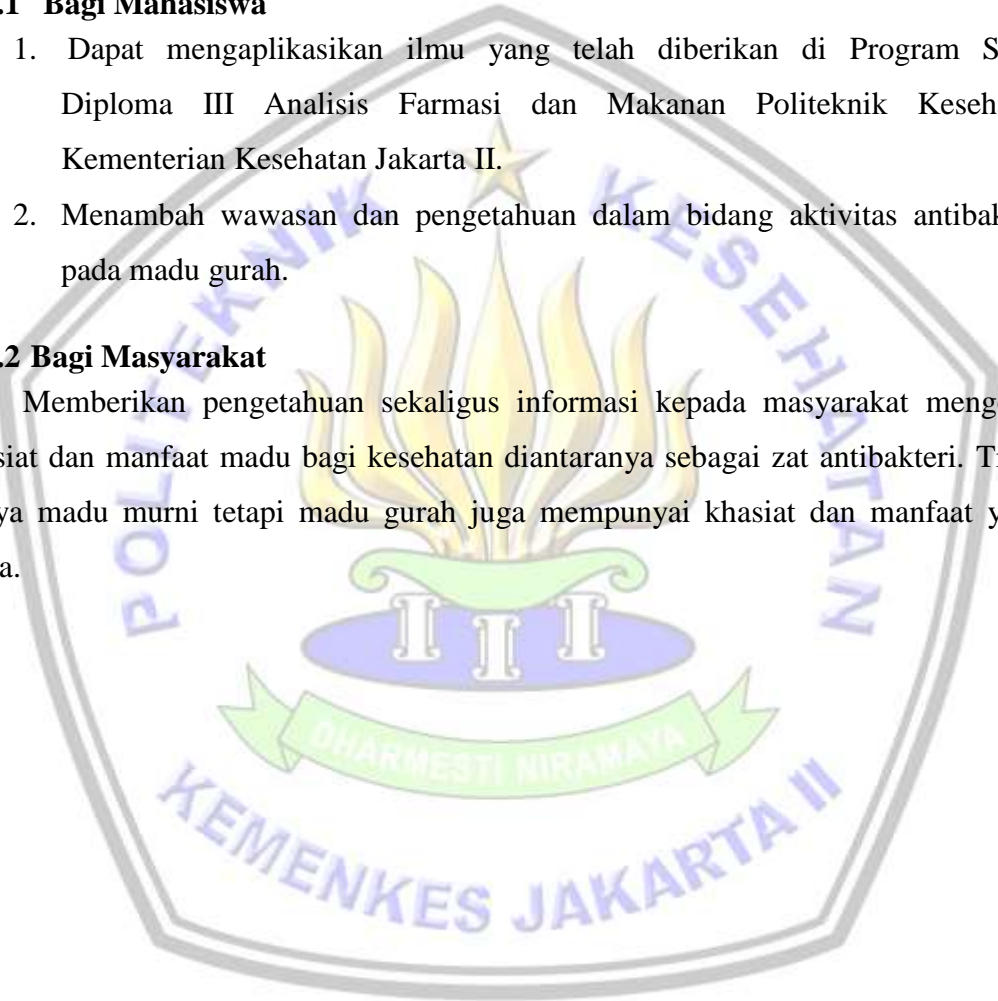
### **1.5 Manfaat Penelitian**

#### **1.5.1 Bagi Mahasiswa**

1. Dapat mengaplikasikan ilmu yang telah diberikan di Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II.
2. Menambah wawasan dan pengetahuan dalam bidang aktivitas antibakteri pada madu gurah.

#### **1.5.2 Bagi Masyarakat**

Memberikan pengetahuan sekaligus informasi kepada masyarakat mengenai khasiat dan manfaat madu bagi kesehatan diantaranya sebagai zat antibakteri. Tidak hanya madu murni tetapi madu gurah juga mempunyai khasiat dan manfaat yang sama.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Landasan Teori

##### 2.1.1. Madu

###### 2.1.1.1. Pengertian

Madu merupakan substansi alam yang diproduksi oleh lebah madu. Lebah mengumpulkan cairan dari sari bunga yang disebut nektar dan di bawa ke sarang lebah, di dalam sarang tersebut lebah menambahkan enzim ke nektar dan menyimpannya dalam sarang yang berbentuk segienam dan pada umumnya madu memiliki rasa manis seperti pada gambar 1. Definisi madu adalah cairan alami yang umunya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu (*Apis sp*) dari sari bunga tanaman (*flora nectar*) atau bagian lain dari tanaman (11).



Gambar 1. Madu (12).

Madu merupakan salah satu obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat dan dikenal sejak 10.000 tahun yang lalu (7). Madu dikenal sebagai cairan yang menyehatkan dan berkhasiat. Khasiat dari madu diperkenalkan pertama kali oleh Hippocrates (460 SM-370 SM) yang memanfaatkan madu sebagai ekspektoran dan pembersih luka pada kulit maupun bisul (3). Madu juga mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Madu dahulu sering dipakai karena mempunyai khasiat yang dapat digunakan sebagai obat, karena kemampuannya dalam mengobati berbagai penyakit seperti bisul, jerawat, batuk, nyeri yang menimpa usus (kolik usus)

gangguan irama jantung (aritmia), penyakit kulit eksim, radang amandel, sinusitis dan berbagai penyakit lainnya (2).

#### **2.1.1.2. Jenis – Jenis Madu**

Berdasarkan sumber bunga (nektar) madu dapat dibedakan menjadi 2 jenis madu, yaitu monofloral, polifloral (11).

1. Monofloral adalah madu yang berasal dari satu jenis bunga atau satu tumbuhan utama, memiliki warna, wangi dan rasa yang spesifik tergantung asal nektarnya.
2. Polifloral adalah madu yang berasal dari berbagai sari bunga. biasanya madu ini dapat dinamai sesuai dengan lokasi madu dikumpulkan. lebah cenderung mengambil nektarnya dari satu jenis tanaman dan baru mengambil dari tanaman lain bila belum mencukupi.

#### **2.1.1.3. Kandungan Madu**

Madu merupakan sumber makanan yang baik karena mengandung asam amino, karbohidrat, protein, vitamin serta mineral yang mudah diserap oleh sel-sel tubuh. Madu juga mengandung sejumlah mineral seperti magnesium, kalium, potasium, sodium, klorin, sulfur, besi, fosfat. Didalam madu juga mengandung banyak manfaat dan khasiat didalamnya (13).

Vitamin yang terkandung pada madu murni antara lain vitamin B1, B2, B3, B6, C, A, E, flavonoid. Sedangkan kandungan nutrisi dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan dalam vitamin C, B3, asam organik, enzim asam fenolik, flavonoid, vitamin A serta vitamin E. Madu berfungsi sebagai antioksidan dikarenakan didalam madu terdapat banyak nutrisi tersebut.

Madu juga mengandung zat aktibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat pada madu yaitu flavonoid. Flavonoid dalam madu merupakan turunan fenol. Senyawa fenol yang merupakan senyawa golongan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan menghambat aktivitas enzim bakteri, pada akhirnya mengganggu proses metabolisme bakteri, sehingga mengakibatkan kematian pada bakteri (11).

#### **2.1.1.4. Mekanisme Madu Sebagai Antibakteri**

Madu mengandung senyawa yang bersifat sebagai antibakteri. Terdapat beberapa faktor yang akan menghambat pertumbuhan bakteri, seperti tekanan osmosis, fenol, hidrogen peroksida, flavonoid. Tekanan osmosis yang akan membuat bakteri menjadi dehidrasi, karena kandungan air pada madu sedikit sehingga bakteri akan dehidrasi sehingga mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Fenol yang akan mendenaturasi protein, kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran sitoplasma mengalami lisis. Hidrogen peroksida yang akan menghasilkan sejumlah besar asam-asam organik. Flavonoid yang akan menghambat aktivitas enzim bakteri, pada akhirnya mengganggu proses metabolisme. Dari keempat antibakteri yang terdapat pada madu tersebut maka sel bakteri akan lisis dan akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri bahkan kematian pada bakteri tersebut (11).

#### **2.1.1.5. Manfaat Madu**

Menurut Wardhana (14) beberapa penelitian menyebutkan khasiat atau manfaat dari madu yaitu:

1. Mempercepat proses penyembuhan luka bakar, jika madu dioleskan pada kulit yang mengalami luka bakar maka madu akan mengurangi rasa sakit dan mencegah pembentukan lepuhan.
2. Mengatasi masalah insomnia, dokter asal Inggris berpendapat bahwa madu memiliki kandungan zat yang berfungsi untuk mengurangi rasa stress dan memiliki zat tidur. Dokter asal Rusia berpendapat bahwa dengan mengkonsumsi satu sendok madu di pagi hari akan mempermudah proses tidur pada malam hari, namun bagi penderita insomnia berat dianjurkan mengkonsumsi dua sendok madu sebelum tidur.
3. Baik untuk pencernaan, madu memiliki molekul gula yang mudah diubah menjadi fruktosa dan glukosa sehingga pada pencernaan yang sensitif dapat pula mencerna madu dengan mudah.

4. Madu sidr telah digunakan dalam aplikasi medis yaitu terapi penyakit hati, infeksi respirasi, penyakit mata dan terapi bedah. Madu ini memiliki antioksidan kuat dan antibakteri.
5. Memperkuat kinerja otot jantung, Ibnu Sina menyebutkan bahwa dengan mengkonsumsi madu dan buah delima dapat memberikan energi dan vitalitas untuk memperkuat otot jantung berdasarkan ensiklopedia medis.
6. Madu dapat meredakan batuk maupun menghilangkan dahak dan untuk terapi kolitis.
7. Madu sebagai antioksidan, kandungan dalam madu memiliki komposisi vitamin C, enzim, fenol, flavonoid dan asam organik.
8. Memiliki potensi mengurangi patogen pada makanan dan mencegah penyakit infeksi.
9. Madu sebagai obat alternatif kecantikan, madu dapat dijadikan sebagai masker wajah dengan manfaat membuat kulit halus, kuat, lembut, segar dan mencegah proses penuaan.
10. Memiliki potensi mengurangi patogen pada makanan dan mencegah masuknya infeksi.

### **2.1.2. Gurah**

Gurah adalah cara pengobatan tradisional untuk mengeluarkan lendir dari dalam tubuh dengan menggunakan ramuan herbal. Gurah merupakan pengobatan tradisional yang dilakukan dengan meneteskan ekstrak daun Srigunggu (*Clerodendron Serratum*) ke mulut atau lubang hidung. Masyarakat menggunakan jasa gurah dengan tujuan bermacam-macam antara lain untuk berobat karena penyakit/gangguan saluran nafas, hidung tersumbat, adapula agar suara menjadi jernih dan lebih nyaring (15). Namun, akhir-akhir ini gurah juga ditujukan untuk menghilangkan dahak di tenggorokan dan mengobati beberapa penyakit salah satunya untuk pengobatan sinusitis (16)

Dalam perkembangannya, herbal yang digunakan tidak melulu daun Srigunggu. Beberapa terapis menggunakan jenis dedaunan dari tumbuhan berkhasiat lainnya,

bahkan ada yang menggunakan bumbu-bumbu dapur seperti cabe dan kunyit dan adapula yang mengandung madu didalamnya. Tujuannya juga mengalami perkembangan, dari yang semula untuk membersihkan tenggorokan kini semua organ yang menghasilkan lendir bisa dibersihkan.

Berdasarkan penelitian yang dilaksanakan oleh SP3T pada tahun 2004 tentang Observasi Klinik Pengobatan Guraah dengan Perasan Kulit Akar Senggugu (*Clerodendron serratum Spreng*), guraah aman untuk digunakan. Hal ini dikarenakan tidak ada reaksi merugikan berbahaya yang terjadi. Efek samping dari guraah antara lain rasa pusing, mata memerah dan berair, hidung terasa pengar dan keluar air, rasa haus, dan telinga berdenging. Efek samping ini umumnya akan menghilang dalam waktu 5 jam (15).

### 2.1.3. Bakteri

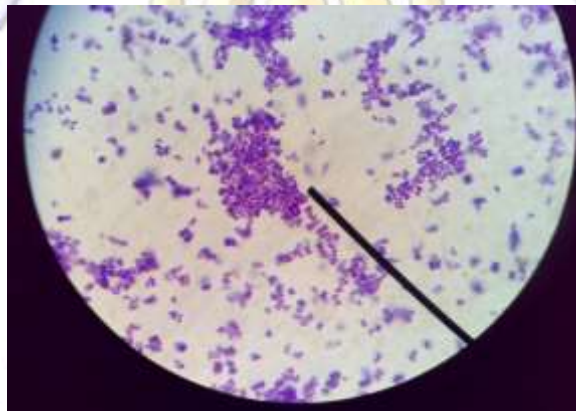
Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani “bakterion” yang berarti tongkat atau batang. Bakteri yang bersel satu dan berkembang biak dengan membelah diri (aseksual), ukuran bakteri bervariasi baik penampang maupun panjangnya. Bakteri dibagi dalam golongan Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap pewarnaan Gram. Perbedaan keduanya diperlihatkan dari dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku. Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, membran luar yang terdiri dari protein, lipoprotein, fosfolipid, lipopolisakarida dan membran dalam. Selain itu, dinding sel bakteri Gram negatif mengandung polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (17).

Bakteri memiliki empat fase pertumbuhan yang dimulai dari fase penyesuaian diri, fase ini merupakan penyesuaian bakteri ke suatu lingkungan baru, pada fase ini tidak ada kenaikan jumlah sel melainkan peningkatan ukuran atau besar sel. Fase kedua adalah fase logaritmik, selama fase ini jumlah sel meningkat dari 1 menjadi 2, 2 menjadi 4, 4 menjadi 8 dan seterusnya. Fase ketiga yaitu fase stasioner, dalam fase ini kecepatan tumbuh sama dengan kecepatan mati sehingga jumlah sel akan konstan.

Fase keempat yaitu fase kematian, pada fase ini terjadi akumulasi bahan toksik dan zat hara yang diperlukan oleh mikroorganismenya juga berkurang sehingga bakteri akan memasuki fase kematian (18).

### 2.1.3.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat atau lonjong, berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tidak berspora, dan tersusun dalam kelompok (seperti buah anggur) yang dapat dilihat pada gambar 2. Pembentukan kelompok ini karena pembelahan sel-sel anaknya cenderung tetap berada di dekat sel induknya. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C), *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua.



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Pewarnaan Gram (Perbesaran 1000x) (19).

*Staphylococcus aureus* diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom* : Eubacteria  
*Divisi* : Firmicutes  
*Kelas* : Bacilli  
*Ordo* : Bacillales  
*Familyi* : Staphylococcaceae  
*Genus* : Staphylococcus  
*Spesies* : *Staphylococcus aureus*

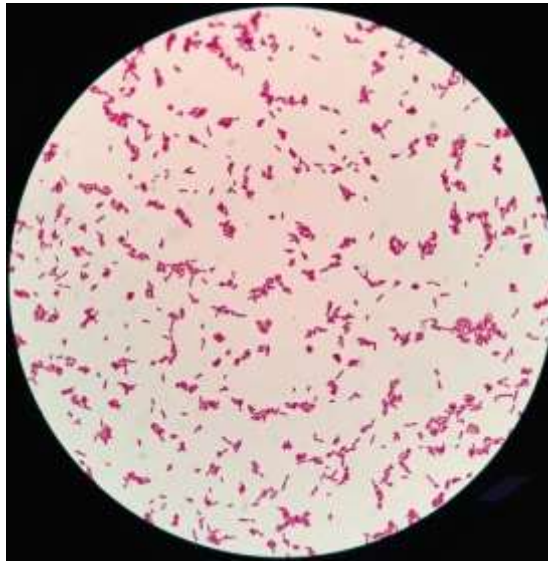
Bakteri *S.aureus* mudah tumbuh dalam berbagai perbenihan dan mempunyai metabolisme aktif serta menghasilkan pigmen yang bervariasi dari warna putih sampai kuning tua. Bakteri ini dapat masuk dalam kulit melalui folikel-folikel rambut dan luka-luka kecil. Infeksi yang ditimbulkan oleh *S.aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini adalah impetigo, bisul, jerawat, infeksi luka, sindrom syok toksik, dan jenis-jenis patogenik lainnya (18).

#### **2.1.3.2. Morfologi *Staphylococcus aureus***

*S.aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *S.aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Pada agar miring dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dan dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain, dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6-14 minggu. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (20).

#### **2.1.3.3. *Escherichia coli***

Bakteri *E.coli* adalah bakteri yang bersifat Gram negatif, berbentuk batang dan tidak memiliki spora seperti terlihat pada Gambar 3. Bakteri ini dapat hidup pada suhu optimum 37°C serta memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan gas. Kondisi optimum untuk bakteri ini tumbuh pada temperatur antara 45-114°F, pH antara 6-8, tetapi ada beberapa jenis bakteri ini yang dapat hidup pada pH di bawah 4,3 maupun pH antara 9-10 (14).



Gambar 3 Bakteri *Escherichia coli* dengan Perwarnaan Gram (Perbesaran 1000x) (21).

*Bakteri Escherichia coli dikalsifikasikan sebagai berikut:*

*Kingdom : Bacteria*

*Filum : Protobacteria*

*Class : Gammaprotobacteria*

*Ordo : Enterobacteriales*

*Family : Enterobacteriaceae*

*Genus : Escherichia*

*Species : Escherichia coli*

Ditemukan dalam usus besar manusia dan tidak menimbulkan penyakit terhadap inang pada keadaan normal, tetapi pada keadaan tertentu dimana terjadi perubahan terhadap inang seperti sistem imun yang menurun, bakteri ini mampu menimbulkan penyakit pada manusia. E.coli memiliki sifat patogen yang dapat menyebabkan beberapa penyakit pada manusia, antara lain menyebabkan infeksi primer pada usus manusia (diare pada anak) dan infeksi pada saluran kemih (17). Mekanisme E.coli dapat menyebabkan diare diawali dengan menempelnya organisme pada glikoprotein atau reseptor glikolipid kemudian diikuti dengan produksi substansi berbahaya yang dapat merusak dan mengganggu fungsi dari sel usus.

#### 2.1.3.4. Morfologi *Escherichia coli*

*E.coli* dari anggota famili Enterobacteriaceae. Ukuran sel dengan panjang 2,0 – 6,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,1 – 1,5  $\mu\text{m}$ . Bentuk sel dari bentuk seperti coocal hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora, *E.coli* batang Gram negatif. Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul, bakteri ini aerobik dan dapat juga aerobik fakultatif. *E.coli* merupakan bakteri penghuni normal usus, seringkali menyebabkan infeksi (22).

#### 2.1.4. Antibakteri

Zat antibakteri adalah zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat digunakan untuk mencegah atau mengatasi infeksi bakteri. Zat ini dapat berupa metabolit sekunder dari mikroba tertentu (antibiotika), diisolasi dari tumbuhan atau hewan dan hasil sintesis kimia (18). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi daya antibakteri suatu bahan adalah konsentrasi bahan, jumlah dan jenis bakteri yang diuji. Ketentuan antibakteri yaitu sebagai berikut :

Tabel 1. Kriteria Daya Hambat Bakteri Menurut Kriteria David Stout (23).

Diameter Zona Hambat	Daya Hambat Pertumbuhan
>20 mm	Sangat Kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut :

- a. Metode Difusi

Metode yang sering digunakan untuk uji daya hambat adalah metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu difusi cakram kertas, metode lubang, dan metode parit.

1. Metode difusi cakram kertas

Prinsip dari metode difusi cakram adalah bahan yang digunakan sebagai antimikroba direndam dalam cakram kemudian cakram tersebut di letakkan di atas media perbenihan agar yang telah di inokulasi dengan bakteri yang akan di uji. Setelah itu di inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya diukur zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram tersebut. Semakin besar zona bening yang tertarik semakin efektif digunakan sebagai antibakteri (24).

2. Metode lubang

Metode ini dilakukan dengan membuat beberapa lubang pada media agar yang telah diberi bakteri. Lubang-lubang tersebut kemudian diisi dengan zat antibakteri yang akan di uji. Kemudian media agar di inkubasi selama 24 jam dan diamati zona hambat yang terbentuk pada sekeliling lubang (24).

3. Metode parit

Lempengan agar yang telah dilakukan inokulasi dengan bakteri dibuat sebidang parit. Kemudian di isi dengan zat antibakteri, kemudian di inkubasi pada waktu dan suhu yang optimum yang sesuai dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh adalah ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit (24).

- b. Metode Dilusi

Selain metode difusi, metode pengenceran dalam tabung yang berisi kaldu dapat digunakan untuk menentukan sensitivitas/kepekaan suatu bakteri terhadap suatu antibiotik. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) suatu antibiotik. KHM adalah konsentrasi terendah suatu senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (24).

## 2.2 Penelitian yang Relevan

Penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Madu Alami dan Olahan Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*” pernah dilakukan oleh Nadya Nazimuddin Putri Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Prima Indonesia pada bulan Agustus – September 2019. Dari penelitian yang telah dilakukan, madu memiliki efek antibakteri karena kandungan fitokimianya, kadar pH yang rendah serta kandungan hidrogen peroksida. Memeroleh madu di Indonesia tergolong mudah tergantung dari jenisnya yang dibedakan atas lokasi perolehan nektarnya yakni madu hutan dan madu budidaya (olahan). Pada penelitian terdahulu ini penulis ingin mengetahui aktivitas antibakteri madu alami dan olahan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* serta mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri antara kedua madu tersebut.

Persamaan penelitian terdahulu dengan pengujian ini meliputi tujuan penelitian yaitu mengetahui aktivitas antibakteri madu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu persamaan penelitian juga terdapat pada media yang digunakan yaitu menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) sebagai media pertumbuhan bakteri untuk dilakukan uji bakteri dengan menggunakan konsentrasi sampel yang sama yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%.

Perbedaan dengan penelitian sebelumnya yaitu metode yang digunakan metode difusi cakram, sedangkan pada pengujian ini metode yang digunakan yaitu metode difusi sumur. Pengujian yang dilakukan pada pengujian sebelumnya hanya dilakukan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) sedangkan pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*).

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

##### **3.1.1 Waktu Penelitian**

Pengujian dilakukan mulai tanggal 5 Maret sampai dengan 26 Maret 2021.

##### **3.1.2 Lokasi Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II Jl. Raya Ragunan No. 29 C Pasar Minggu Jakarta Selatan.

#### **3.2 Prinsip Penelitian**

Zona hambat terbentuk setelah bahan uji dijenuhkan di dalam lubang (sumur) yang dibuat dengan diameter tertentu diatas media agar padat yang telah dicampurkan dengan bakteri yang di uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya aktivitas antibakteri pada sampel ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitaran lubang (sumur).

#### **3.3 Metode Penelitian**

Pengujian aktivitas antibakteri dalam sampel madu menggunakan metode difusi sumur dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) disertai dengan kontrol positif dan negatif

#### **3.4 Prosedur Penelitian (8) dan (25)**

##### **3.4.1 Penyiapan Sampel**

Sampel disimpan pada suhu ruangan, di tempat yang gelap / jauh dari sinar matahari, dan diencerkan masing-masing pada konsentrasi berturut-turut 25%, 50%, 75%, dan 100% (tidak diencerkan) dan sebagai kontrol aqudest (8).

### 3.4.2 Penyiapan Kultur Bakteri (Peremajaan Bakteri)

Masing – masing *E. coli* (Gram negatif) dan *S. aureus* (Gram positif) dibiakkan dalam larutan *Lactose Broth* (LB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan hasil peremajaan pada media *Lactose Broth* (LB) lalu disuspensikan dalam Natrium Klorida (NaCl) dan dikocok. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan. Pengukuran jumlah biakan menggunakan metode Mc Farland 0,5 (8).

### 3.4.3 Cara Uji Difusi

Sebanyak 0,2 mL inokulum *S.aureus* yang jumlahnya setara dengan Mc Farland 0,5 diinokulasikan masing-masing ke dalam 20 mL media Nutrien Agar (NA) yang suhunya  $\pm 45^{\circ}$  C, kemudian dihomogenkan. Media NA yang telah mengandung bakteri uji dituang ke dalam cawan Petri steril. Setelah media mengeras dibuat sumur dengan menggunakan cork borer diameter 7 mm. Sebanyak 50  $\mu$ l dari masing-masing konsentrasi ekstrak daun sirih, ekstrak daun kemangi, serta dan kombinasi konsentrasi ekstrak daun sirih dan ekstrak daun kemangi, diisikan ke dalam sumur pada media agar dan sebagai pembanding digunakan antibiotik kloramfenikol 30  $\mu$ g dan tetrasiklin 30  $\mu$ g sebagai kontrol positif dan kontrol negatif (DMSO). Media tersebut didiamkan selama 15-20 menit pada 27° C, diharapkan sampel dan pembanding tersebut meresap ke dalam media agar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona penghambatan yang ditandai dengan area bening disekeliling sumur. Pengukuran dilakukan dalam satuan milimeter (mm). Besarnya diameter zona penghambatan merupakan nilai pengurangan diameter zona penghambatan bakteri uji dengan diameter zona penghambatan kontrol (pelarut). Pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali. Sebagai kontrol positif digunakan cakram antibiotik kloramfenikol 30 ug dan tetrasiklin 30 ug (25).

### 3.5 Prosedur Modifikasi

#### 3.5.1 Penyiapan Sampel

Sampel disimpan pada suhu ruangan, di tempat yang gelap / jauh dari sinar matahari, dan diencerkan masing-masing pada konsentrasi berturut-turut 25%, 50%, 75%, dan 100% (tidak diencerkan). Digunakan aquadest sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol 0,01% sebagai kontrol positif.

#### 3.5.2 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri disterilkan terlebih dahulu, alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama  $\pm$  30 menit dan jarum ose dibakar dengan pembakaran di atas api langsung.

#### 3.5.3 Isolasi Bakteri

- a) Masing-masing isolat *S.aureus* dan *E.coli* dari biakan murninya diambil sebanyak 1 ose.
- b) Kemudian masing – masing bakteri ditumbuhkan atau diinokulasikan dengan cara digores pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan media *Manitol Salt Agar* (MSA).
- c) Kultur bakteri pada masing-masing media agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- d) Diamati koloni dengan warna hijau metalik pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk bakteri *E.coli* dan berwarna kuning pada media *Manitol Salt Agar* (MSA) untuk bakteri *S.aureus*.

#### 3.5.4 Peremajaan Bakteri

- a) Masing – masing koloni bakteri *E.coli* (Gram negatif) dan *S.aureus* (Gram positif) dari media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan media *Manitol Salt Agar* (MSA) diambil sebanyak 1 ose.
- b) Kemudian dibiakkan dalam larutan *Lactose Broth* (LB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### 3.5.5 Pembuatan Suspensi

- a) Biakan hasil peremajaan diambil dari larutan *Lactose Broth* (LB). disuspensikan dalam natrium klorida (NaCl) 0,9% dan dikocok.
- b) Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan.
- c) Pengukuran jumlah biakan disesuaikan menggunakan metode Mc Farland 0,5.

### 3.5.6 Cara Uji Difusi

- a) Sebanyak 0,2 mL inokulum *S.aureus* dan *E.coli* yang jumlahnya setara dengan Mc Farland 0,5 diinokulasikan masing-masing ke dalam 20 mL media *Nutrient Agar* (NA) yang suhunya  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ , kemudian dihomogenkan.
- b) Media *Nutrient Agar* (NA) yang telah mengandung bakteri uji dituang ke dalam cawan Petri steril.
- c) Setelah media mengeras dibuat sumur dengan menggunakan *cork borer* diameter 7 mm. Sebanyak 50  $\mu\text{l}$  dari masing-masing konsentrasi sampel madu diisikan ke dalam sumur pada media agar dan sebagai pembanding digunakan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif dan kontrol negatif aquadest steril.
- d) Media tersebut didiamkan selama 30 – 60 menit pada  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , diharapkan sampel dan pembanding tersebut meresap ke dalam media agar.
- e) Selanjutnya diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam.
- f) Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona penghambatan yang ditandai dengan area bening disekeliling sumur. Pengukuran dilakukan dalam satuan milimeter (mm).
- g) Pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali. Antibiotik kloramfenikol 0,01 % digunakan sebagai kontrol positif dan aquadest steril digunakan sebagai kontrol negatif.

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

Alat Autoklaf (*Hirayama model HL 50E*), inkubator (*Memmert*), oven (*Heraeus Instruments*), timbangan analitik (*CY 301C*), vortex (*Thermolyne*), jangka sorong, kompor, *laminar air flow*, jarum ose, Finnipet, mikropipet, *yellow tips*, *blue tips*, lampu spiritus dan seperangkat alat gelas.

#### 3.6.2 Bahan

##### 3.6.2.1 Data Sampel

Tabel 2. Data Sampel

<b>Nama sampel</b>	<b>Produksi</b>	<b>Expired date</b>	<b>Netto</b>	<b>Warna</b>	<b>Kemasan</b>	<b>komposisi</b>
<b>A</b>	CV. A	Januari 2023	125 mL	Coklat Kekuningan	Botol plastik	<i>Curcuma xanthorrhiza rhizoma extract, Clerodendron serratum radix extract, Zingiberis officinale rhizome extract, Cinnamomum burmanli cortex extract, Kaempferia galanga rhizoma extract, Propolis, Oleum Nigella sativa semen, Royal jelly, Mel depuratum.</i>
<b>B</b>	CV. D	Februari 2023	125 mL	Coklat	Botol plastik	Madu, Propolis, <i>Nigella Sativa, Clerodendron Serratum, Zingiber Oficianale, Centella Asiatica, Selaginella Doederleinii Hieron, Curcuma Xanthorrhiza</i> , dll.
<b>C</b>	CV. N	08 Oktober 2022	125 mL	Coklat Tua	Botol plastik	<i>Mel depuratum, Clerodendron serratum Folium extract, Zingiber officinale Rhizoma extract,</i>

						<i>Centello asiatica Folium extract, Garcinia mangostana Cortex extract,</i>
<b>D</b>	CV. B	Januari 2023	160 g	Coklat Kekuningan	Botol plastik	<i>Mel Depuratum Syrup, Zingiber Officinale, Abrus Precatorius, Kaempferia Galanga, Rothea Serrata, Mintha Spacata.</i>
<b>E</b>	CV. H	Juli 2023	125 mL	Coklat	Botol plastik	<i>Mel deparantum, Propolis, Royal jelly, Nigela Sativa extract, Curcuma xanthoriza extract, dll.</i>
<b>F</b>	CV. A	Juli 2022	125 mL	Coklat Muda	Botol plastik	<i>Mel depuratum, Clerodendron serratum radix ekstrax, Kaempferia galanga rhizoma ekstrax, Zingerberis officinale rhizoma ekstrax, Cinamomum burmanii cortex ekstrax, Oleum nigella sativa semen, Bee propolis, Royal jelly, Menthae piperitae folium ekstrak, Curcuma xanthorizae rhizome.</i>
<b>G</b>	CV. P	Januari 2023	280 g	Coklat kuning keemasan	Botol Kaca	Madu murni, Jamur sari tobong, Jahe merah, Kulit jeruk, Daun mint, Akar kayu manis, Propolis, Garlic oil, dan herbal lain 15%.

### 3.6.2.2 Media/Pelarut/Pereaksi

Sampel madu gurah, aquadest steril, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) , *Manitol Salt Agar* (MSA), *Lactose Broth* (LB), *Nutrient Agar* (NA), Natrium klorida (NaCl) 0,9% , Mc Farland 0,5, kloramfenikol 0,01%, alkohol 70%.

### 3.7 Rumus Perhitungan

Efek antibakteri dinyatakan positif jika terlihat zona bening di sekitar lubang (sumur). Dilakukan pengukuran zona hambat yang berada di sekitar lubang (sumur) dengan menggunakan jangka sorong (dalam mm). Rumus pengukuran hambat sebagai berikut :

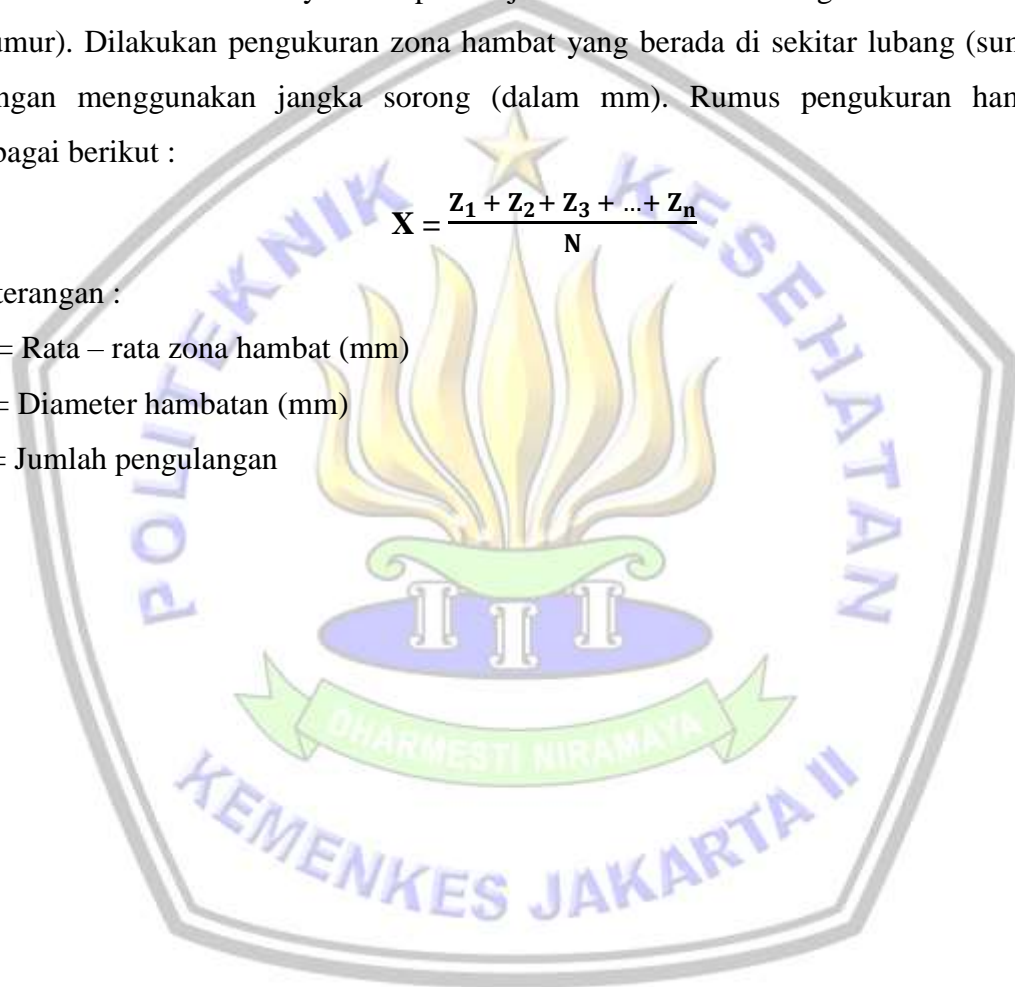
$$X = \frac{Z_1 + Z_2 + Z_3 + \dots + Z_n}{N}$$

keterangan :

X = Rata – rata zona hambat (mm)

Z = Diameter hambatan (mm)

n = Jumlah pengulangan



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Diameter zona hambat pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode difusi sumur. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap tujuh sampel madu gurah diperoleh hasil pengukuran dari ke dua jenis bakteri yang ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Sampel 1 Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

No.	Konsentrasi Sampel 1	Diameter Zona Hambat (mm)							
		<i>E.coli</i>			Rata-rata <i>E. coli</i> (mm)	<i>S.aureus</i>			Rata-rata <i>S. aureus</i> (mm)
		I	II	III		I	II	III	
1.	25%	23	22	22	22,3	23	23	24	23,3
2.	50%	26	25	26	25,6	28	28	28	28
3.	75%	27	28	27	27,3	29	29	29	29
4.	100%	31	32	30	31	32	30	30	30,6
5.	Kontrol (+)	22	20	23	21,6	22	20	21	21
6.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Sampel 2 Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

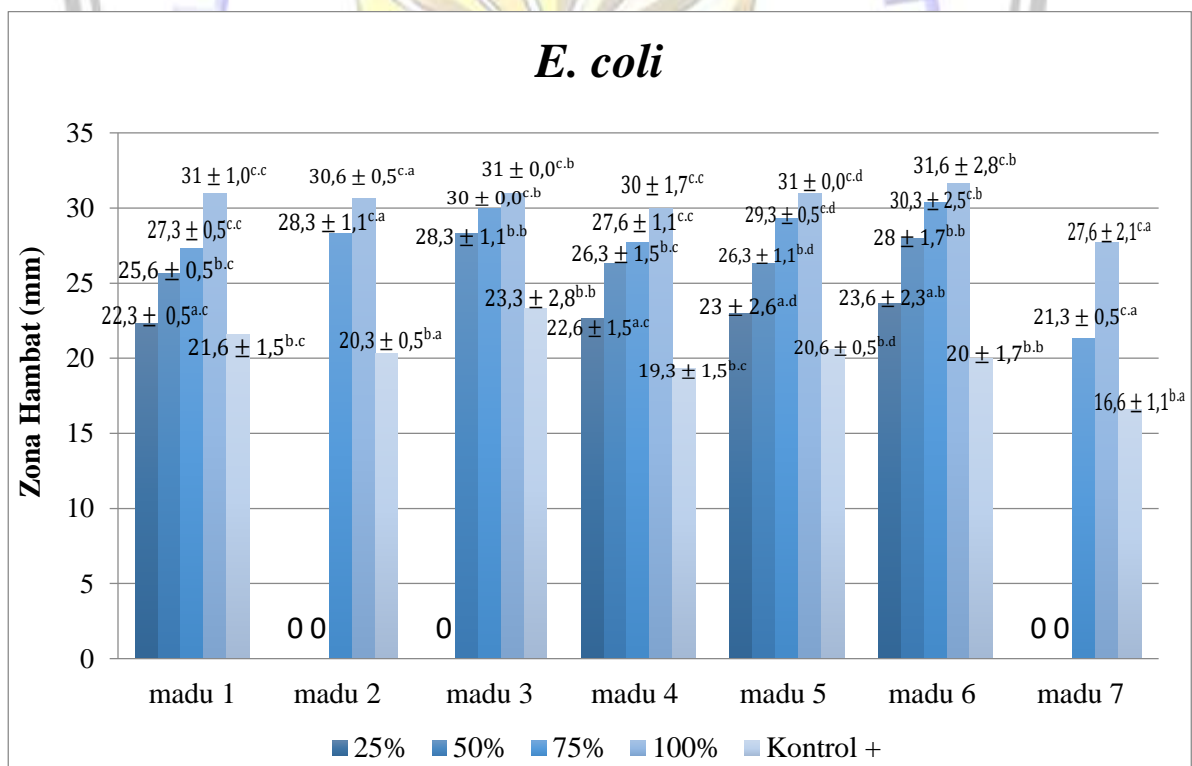
No.	Konsentrasi Sampel 2	Diameter Zona Hambat (mm)							
		<i>E.coli</i>			Rata-rata <i>E. coli</i> (mm)	<i>S.aureus</i>			Rata-rata <i>S. aureus</i> (mm)
		I	II	III		I	II	III	
1.	25%	0	0	0	0	21	25	21	22,3
2.	50%	0	0	0	0	22	26	27	25
3.	75%	29	27	29	28,3	27	28	30	28,3
4.	100%	31	30	31	30,6	28	30	33	30,3
5.	Kontrol (+)	20	20	21	20,3	17	20	20	19
6.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	0	0

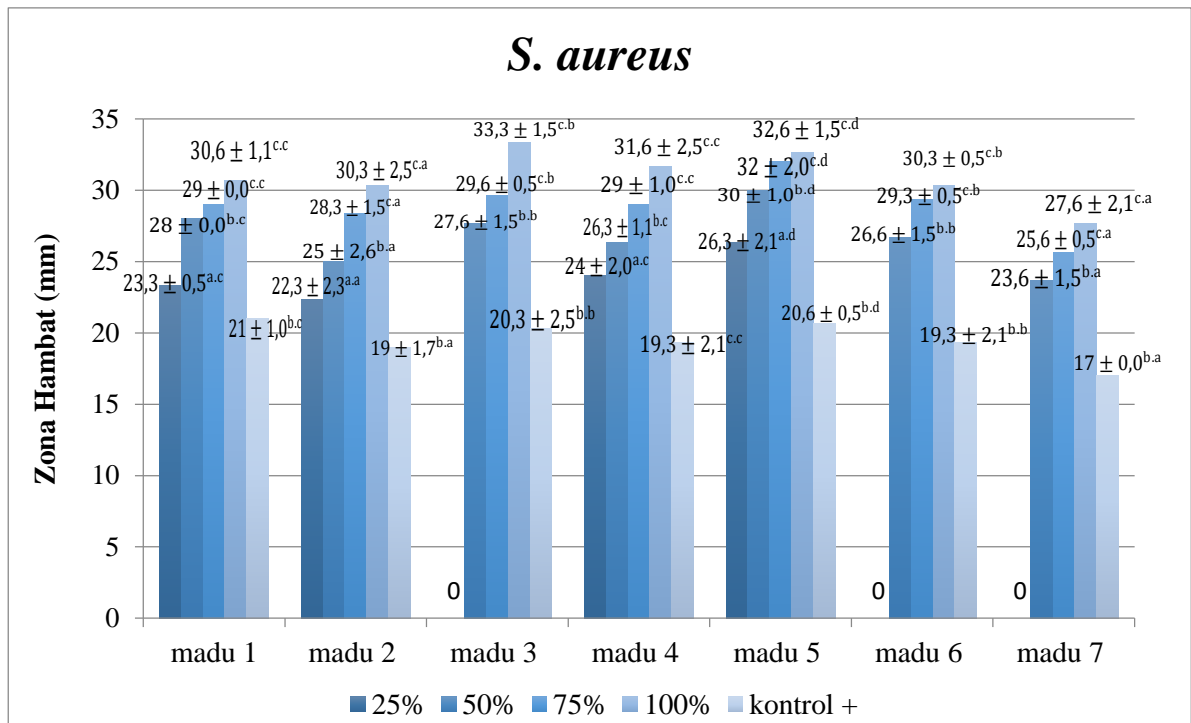




Tabel 9. Diameter Zona Hambat Sampel 7 Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

No.	Konsentrasi Sampel 7	Diameter Zona Hambat (mm)							
		<i>E.coli</i>			Rata-rata <i>E. coli</i> (mm)	<i>S.aureus</i>			Rata-rata <i>S. aureus</i> (mm)
		I	II	III		I	II	III	
1.	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	50%	0	0	0	0	22	25	24	23,6
3.	75%	21	22	21	21,3	26	26	25	25,6
4.	100%	30	26	27	27,6	27	30	26	27,6
5.	Kontrol (+)	18	16	16	16,6	17	17	17	17
6.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	0	0

Gambar 4. Diagram Zona Hambat Madu Gurah Terhadap Bakteri *E. coli*



Gambar 5. Diagram Zona Hambat Madu Gurah Terhadap Bakteri *S. aureus*

#### 4.2. Pembahasan

Uji aktivitas antibakteri merupakan suatu metode pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (18). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur terhadap tujuh sampel madu gurah yang terdapat di pasaran atau toko herbal. Pada penelitian kali ini uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode difusi sumur dengan tiga kali pengulangan, penentuan efektifitas antibakteri dilakukan berdasarkan perbandingan diameter zona hambat yang muncul disekitar lubang (sumur) yang telah diberikan zat antibakteri berupa sampel uji.

Pengujian dilakukan terhadap kontrol positif dan kontrol negatif yang berfungsi sebagai pembanding terhadap sampel yang diuji. Aquadest digunakan sebagai pelarut sekaligus sebagai kontrol negatif. Penggunaan kontrol negatif bertujuan untuk

memastikan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan bukan pengaruh dari pelarut, tetapi murni dari senyawa aktif dalam sampel uji tersebut. Sementara Penggunaan kontrol positif berfungsi sebagai pembanding serta untuk mengetahui apakah media yang telah dibuat bekerja dengan baik untuk pertumbuhan bakteri, sehingga menghindari terjadinya kesalahan pengambilan kesimpulan. kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Pemilihan kloramfenikol karena kloramfenikol merupakan antibakteri pertama yang berspektrum luas, dengan mekanisme kerja menghambat sintesis protein dan bersifat bakteriostatik.

Sebelum melakukan pengujian, alat yang akan digunakan dan bersentuhan dengan media atau sampel seperti cawan Petri, tabung reaksi, dan alat gelas lainnya, disteril terlebih dahulu didalam oven suhu 180°C selama 1 jam. Media dan larutan pengencer yang telah dibuat juga disteril didalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi dilakukan guna mendapatkan kondisi pengujian yang terbebas dari cemaran lain atau steril.

Semua kegiatan pengujian dimulai dari penyiapan sampel sampai dengan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dibawah *Laminar Air Flow* (LAF) secara aseptis didekat lampu spirtus.

Uji aktivitas antibakteri madu gurah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan mengisolasi terlebih dahulu masing-masing bakteri uji. Isolasi bakteri dilakukan untuk memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran sehingga diperoleh biakan yang murni. Bakteri *Escherichia coli* diisolasi pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) yang ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna hijau metalik setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) sendiri merupakan medium selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif dan mikroorganisme coliform. Media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) merupakan media untuk uji konfirmasi adanya bakteri. Sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* diisolasi pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) yang ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna kuning emas, bulat dan cembung setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. *Mannitol Salt Agar*

(MSA) sendiri merupakan media selektif-diferensial yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan hanya bakteri tertentu yang dapat hidup. Media-media ini disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit agar pada saat menumbuhkan bakteri uji tidak terkontaminasi dengan bakteri lain, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Tahap selanjutnya, setelah dilakukan isolasi bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* kemudian dilanjutkan tahap peremajaan bakteri. Tujuan dilakukannya peremajaan bakteri adalah untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga dapat berkembangbiak dengan baik dan dapat digunakan sesuai fungsinya. Media yang digunakan dalam peremajaan bakteri adalah media *Lactose Broth* (LB). Media *Lactose Broth* (LB) merupakan media non selektif yang dapat memperbaiki kerusakan sel dan memberi nutrisi bagi bakteri. Media ini disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit agar pada saat menumbuhkan bakteri uji tidak terkontaminasi dengan bakteri lain, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Tahap selanjutnya yang dilakukan adalah pembuatan suspensi bakteri. Bakteri uji yang tumbuh kemudian disuspensikan ke dalam Natrium Klorida (NaCl) 0,9% dan dikocok hingga keruh. Digunakan larutan Natrium Klorida (NaCl) 0,9% karena larutan tersebut merupakan larutan fisiologis yang ada diseluruh tubuh manusia. Kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  cfu/mL). Standar Mc Farland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  cfu/mL) adalah standar jumlah koloni bakteri berdasarkan kekeruhan. Kekeruhan tersebut merupakan hasil pembelahan bakteri. Suspensi bakteri ini digunakan pada pengujian antibakteri.

Pada pengujian ini preparasi sampel dilakukan secara aseptis menggunakan alat dan wadah yang steril. Ke tujuh sampel madu gurah dibuat dengan konsentrasi berturut-turut 25%, 50%, 75%, dan 100% (tidak diencerkan). Masing-masing sampel dipipet sebanyak 250 µl, 500µl, 750 µl dan 1000µl dengan menggunakan mikropipet. Sampel dimasukkan ke dalam wadah eppendorf yang sudah steril dan diencerkan

dengan aquadest steril hingga 1 mL (kecuali 1000  $\mu$ l tidak diencerkan) kemudian di vortex agar homogen.

Persipan bakteri uji dilakukan dengan cara sebanyak 0,2 mL inokulum bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diinokulasikan masing-masing ke dalam 20 mL media *Nutrient Agar* (NA) yang suhunya  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  dimana suhu tersebut digunakan agar pada saat bakteri diinokulasikan ke dalam media diharapkan bakteri tersebut tidak mati, jika suhu yang digunakan terlalu panas dikhawatirkan bakteri uji akan mati, kemudian dihomogenkan. Media *Nutrient Agar* (NA) digunakan karena NA merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Media ini mengandung nutrisi yang mendukung pertumbuhan bakteri. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Media yang telah mengandung bakteri uji dituang ke dalam cawan Petri steril. Setelah media mengeras dibuat sumur dengan diameter 7 mm. Setelah itu sebanyak 50  $\mu$ l dari masing-masing konsentrasi sampel diisikan ke dalam lubang (sumur) pada media agar. Media tersebut didiamkan selama  $\pm 1$  jam didalam lemari es, diharapkan sampel dan pembeding tersebut meresap ke dalam media agar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dimana suhu tersebut merupakan suhu optimal bagi bakteri untuk tumbuh. inkubasi dilakukan selama 24 jam karena pada waktu tersebut bakteri dimungkinkan telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial, pada fase tersebut bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah sel meningkat.

Setelah diinkubasi didapat hasil berdasarkan tabel 3 hingga tabel 9 berturut-turut memperlihatkan hasil uji aktivitas antibakteri sampel madu gurah 1 sampai dengan sampel madu gurah 7 terhadap bakteri *S.aureus* dan *E. coli*. Dihambatnya pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan munculnya zona hambat mulai konsentrasi 25% - 100% pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* , sehingga sampel madu gurah yang diuji memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* . Hal ini diperkuat dengan penelitian Misbahul (2) dimana madu memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli*.

Pada uji aktivitas antibakteri madu gurah dengan menggunakan *E. coli*, sampel madu gurah 6 membentuk zona hambatan paling besar jika dilihat berdasarkan nilai rata-rata dari tiga kali pengulangan, baik pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dibandingkan dengan nilai rata-rata sampel madu gurah 1, 2, 3, 4, 5, dan 7. Uji aktivitas antibakteri madu gurah dengan menggunakan *S. aureus*, sampel madu gurah 5 membentuk zona hambatan yang paling besar jika dilihat berdasarkan nilai rata-rata dari tiga kali pengulangan, baik pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dibandingkan dengan nilai rata-rata sampel madu gurah 1, 2, 3, 4, 6, dan 7. Sedangkan sampel madu gurah 7 membentuk zona hambatan yang paling kecil pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% jika dilihat berdasarkan nilai rata-rata dari tiga kali pengulangan baik terhadap bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* dibandingkan dengan sampel madu gurah 1, 2, 3, 4, 5, dan 6. Dari perlakuan terhadap bakteri yang digunakan, secara umum zona hambatan yang terbentuk pada sampel madu gurah 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 yaitu semakin besar konsentrasi madu yang digunakan (mulai 25% sampai 100%) semakin besar pula zona hambat yang terbentuk yang mengindikasikan bahwa semakin kuat daya hambat madu terhadap pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil uji statistik terhadap interaksi antara variasi konsentrasi pengenceran dengan sampel, diperoleh hasil bahwa semua konsentrasi pengenceran memberikan efek antibakteri yang berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan konsentrasi terbaik yang memberikan zona hambat maksimum yaitu konsentrasi 100%. Hal ini menunjukkan bahwa khasiat madu gurah sebagai antibakteri adalah berbanding lurus dengan konsentrasi madu. Madu gurah yang dikonsumsi secara langsung (tanpa diencerkan) jauh lebih efektif dibandingkan madu gurah yang dicampurkan bersama minuman lain (teh, susu, dan lain-lain). Semakin rendah konsentrasi, jumlah senyawa aktif dalam madu semakin sedikit sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri berkurang. Sebaliknya, semakin tinggi konsentrasi maka jumlah senyawa aktif dalam madu semakin banyak sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri menjadi meningkat (3). Selain itu variasi sampel juga memberikan perbedaan secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal tersebut mungkin dikarenakan

perbedaan sumber nektar yang diperoleh dan melalui proses pengolahan yang berbeda untuk tiap masing-masing jenis sampel madu gurah tersebut. Serta kemungkinan terdapat penambahan zat-zat tertentu yang berbeda di setiap komposisi masing-masing jenis madu gurah tersebut.

Secara garis besar potensi madu sebagai antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu hidrogen peroksida, senyawa flavonoid, efek osmolaritas yang tinggi serta pH yang rendah. Madu mengandung senyawa antiseptik yaitu hidrogen peroksida. Meski konsentrasi hidrogen peroksida dalam madu lebih kecil hanya 1000 kali lebih kecil jumlahnya dibandingkan larutan peroksida 3% yang biasa dipakai sebagai antiseptik, efektifitasnya tetap baik sebagai pembunuh bakteri (2). Kandungan senyawa flavonoid dalam madu sebagai antibakteri bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri serta mencegah pembelahan bakteri sehingga menyebabkan kematian sel bakteri. Selain itu madu juga memiliki kadar air yang relatif rendah yakni kurang dari 20% dan kadar gula yang tinggi dimana kondisi tersebut sangat tidak mendukung untuk pertumbuhan bakteri karena menimbulkan efek osmosis yang dapat membunuh bakteri (8). Kadar gula yang tinggi dalam madu akan menciptakan lingkungan bebas air sehingga bakteri tidak bisa hidup didalamnya. kemampuan madu sebagai antibakteri yang lain adalah madu memiliki kadar pH yang rendah berkisar 3,2 – 4,5 sehingga bersifat asam yang dapat menghambat metabolisme bakteri, dengan terhambatnya metabolisme bakteri menyebabkan bakteri mudah mengalami lisis, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (9). Faktor – faktor antibakteri tersebut tidak menutup kemungkinan juga diperkuat oleh faktor – faktor lain dalam madu yang mendukung sifat antibakteri madu.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap sampel madu gurah, dapat disimpulkan bahwa ke tujuh sampel madu gurah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Semakin besar konsentrasi sampel madu gurah semakin besar zona hambat yang terbentuk, hal ini menunjukkan bahwa khasiat madu sebagai antibakteri adalah berbanding lurus dengan konsentrasi madu.

Berdasarkan uji statistik terdapat perbedaan secara signifikan terhadap interaksi antara variasi konsentrasi pengenceran dan variasi sampel.

#### **5.2 Saran**

Metode pengujian yang dilakukan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri terhadap sampel madu gurah sudah cukup baik. penulis menyarankan untuk dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan beberapa metode sebanding seperti metode difusi cakram atau metode difusi cair. Serta dengan menggunakan konsentrasi dan jenis bakteri yang berbeda untuk mempertegas bahwa madu gurah mempunyai kemampuan aktivitas antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Panjaitan RA, Darmawati S, Prastiyanto ME. Aktivitas Antibakteri Madu Terhadap Bakteri *multidrug-resistant Salmonella typhi* Dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Pros Semin Nas Edusainstek. 2018;
2. Huda M. Pengaruh Madu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) Dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*). J Anal Kesehat. 2013;
3. Sun DM, Rini DI, Nurina RL. Uji Aktivitas Antibakteri Larutan Madu Hutan Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara In Vitro. Cendana Med J. 2019;
4. Badan Standarisasi Nasional. SNI 3545:2003 Madu. 2013;26.
5. Wineri E, Rasyid R, Alioes Y. Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan secara In Vitro terhadap *Streptococcus beta-hemoliticus Group A* sebagai Penyebab Faringitis. J Kesehat Andalas. 2014;
6. Putri N, Journal) CM-P (Prima M, 2020 undefined. Uji Aktivitas Antibakteri Madu Alami Dan Olahan Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal UnprimdnAcId [Internet]. Available from: <http://jurnal.unprimdn.ac.id/index.php/PRIMER/article/view/984>
7. Nur A, Noor A, Sirajuddin S. Aktivitas Antibakteri Madu Trigona terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*). J Kesehat. 2019;
8. Kristanty RE, Suriawati J, Nugroho PD. Antimicrobial Effect Of Honey Distributed Around Pasar Minggu Jakarta Selatan.
9. Yuliati Y. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosae* Dengan Metode Disk Diffusion. J Profesi Med J Kedokt Dan Kesehat. 2017;
10. Kusumawati E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus* Dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Sumur.2016;
11. Santoso APB, Puspitasari E, Dewi Pr. Uji Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Madu Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* Dengan Metode Difusi Cakram. Stikes Insa cendekia Med. 2020;
12. <https://jogja.tribunnews.com/2018/09/06/7-manfaat-mengonsumsi-madu-dicampur-air-hangat>.
13. Putra HS, Astuti W, Kartika R. Aktivitas Amilase, Protase dan Lipase Dari Madu Lebah Trigona (*Trigona sp*), *Apis*, *Apis mellifera* dan *Apis dorsata*. J

Kim Mulawarman. 2018;

14. Wardhana BK. Efektifitas Ekstrak Viadu Karet Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. RepositoryUinjktAcId [Internet]. 2014; Available from: <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/26065>
15. Suryadi S. Analisis Perubahan Waktu Transportasi Mukosilia Hidung Penderita Sinusitis Kronis Pada Pengobatan Gura. J Media Med Muda. 2012;7:1–25.
16. Zaenal AA. Analisis Pengaruh Gura Pada Penderita Sinusitis Kronis Terhadap Angka Kekambuhan. Vol. 7, Jurnal Media Medika Muda. 2012. 1–25 p.
17. Rahmadani F. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. 2015;24.
18. Prestianti I. Uji Aktivitas Ekstrak Sarang Lebah Dan Madu Hutan Dari Kolaka Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi Makassar Jur Kim Pada Fak Sains dan Teknol UIN Alauddin Makassar. 2017;1–94.
19. Mitha MJ. Identifikasi Bakteri Pada Layar Telepon Genggam Petugas Medis Di Rumah Sakit Daerah A.Dadi Tjokrodipo Bandar Lampung. J Chem Inf Model. 2018;53(9):1689–99.
20. Wulandari GT. Uji Aktivitas Madu Pohon Gondang Dan Pohon Mangga Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). 2018;
21. Aris Rivaldi. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Dan *Shigella sp* . Terhadap Jajanan Cilok Pada Lingkungan Sd Negeri Di Cirendeu, Pisangan, Dan Cempaka Putih. 2016. 85 p.
22. Zakki GI. Pengetahuan Dan Perilaku Preventif Terhadap Bakteri *E. coli* Pada Masyarakat Kecamatan Gondomanan Di Kota Yogyakarta. 2015. 119 p.
23. Rita WS. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe). J Kim. 2010;4(1):20–6.
24. Prasetyo A. Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya Sebagai Antibiotik Alami terhadap *Shigella dysenteriae*. 2017;
25. Suriawati, Junie; Patimah; Rachmawati SR. Pengembangan Sediaan Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai Antiseptik Tangan dan Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*. 2017.

**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

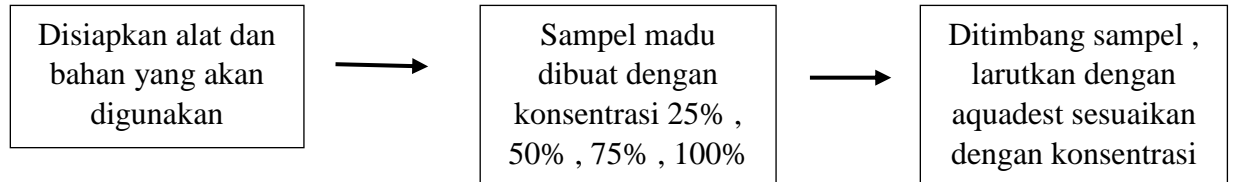
**A**

**N**

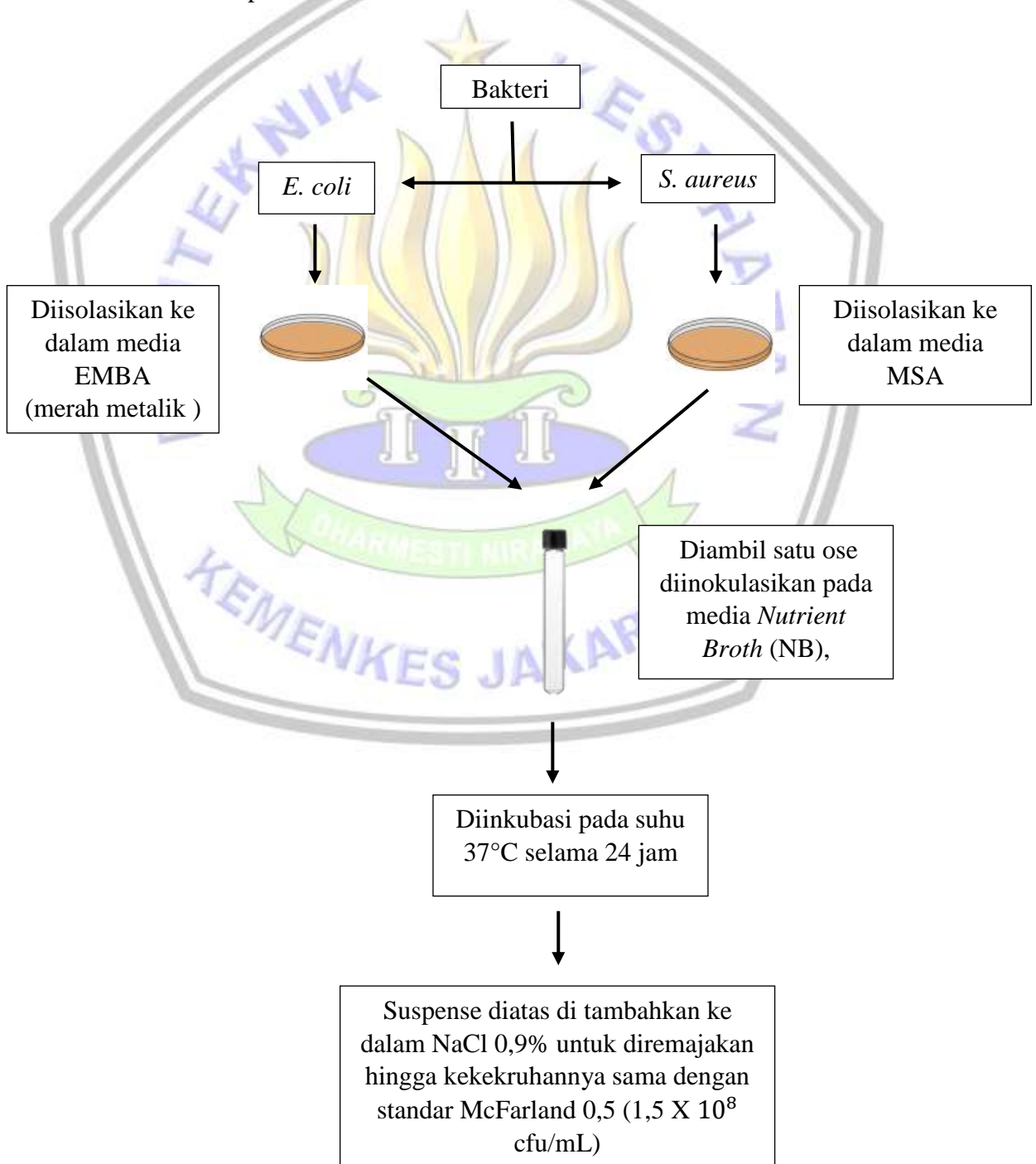


## Lampiran 1. Skema Kerja Uji Aktivitas Antibakteri Madu Gurah

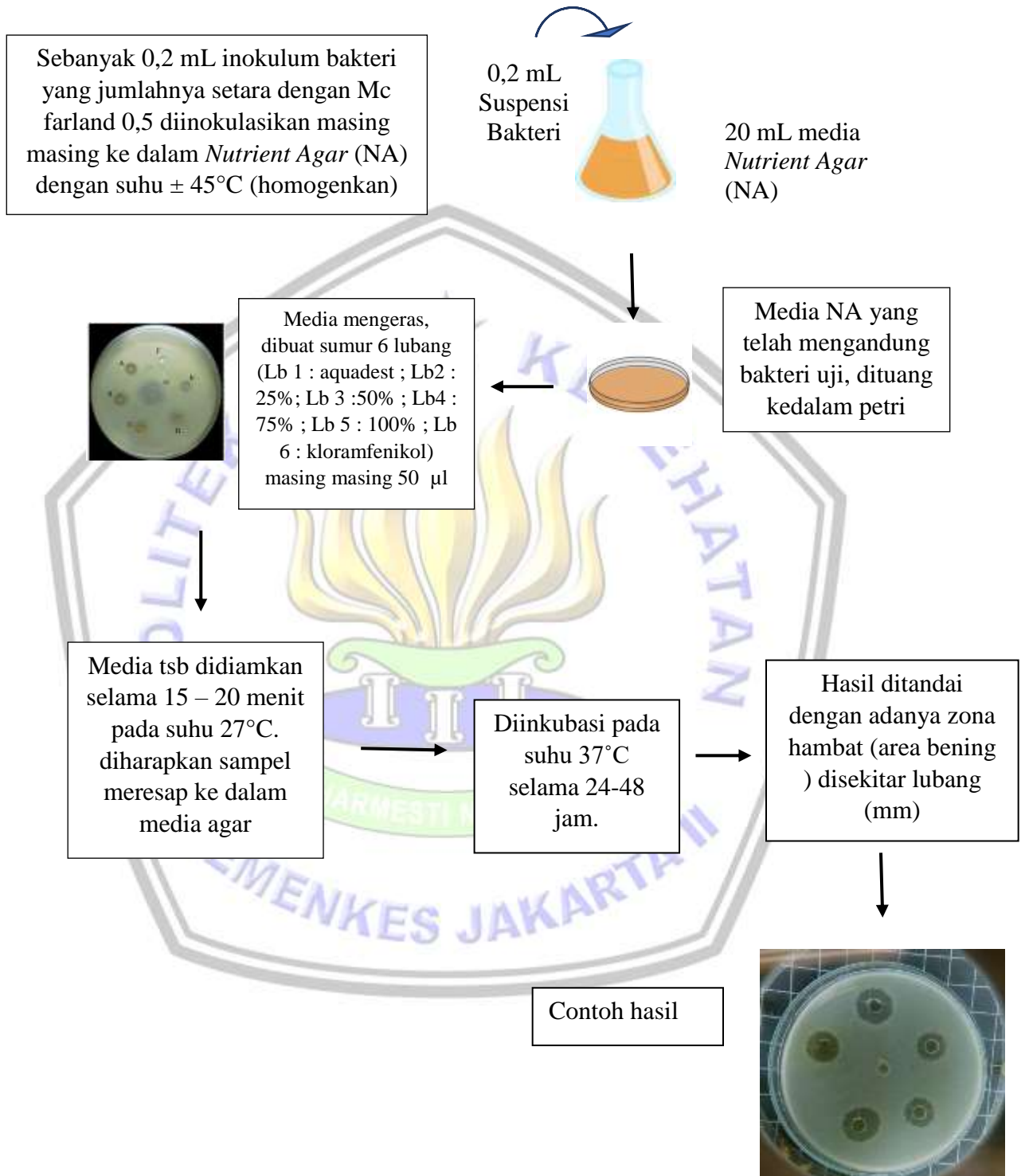
## A. Proses Penyiapan Sampel



## B. Pembuatan suspensi bakteri



### C. Uji Aktivitas Antibakteri



## Lampiran 2. Data SPSS

## Univariate Analysis of Variance

## Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Sampel	1	madu 1	30
	2	madu 2	30
	3	madu 3	30
	4	madu 4	30
	5	madu 5	30
	6	madu 6	30
	7	madu 7	30
Konsentrasi	1	25%	42
	2	50%	42
	3	75%	42
	4	100%	42
	5	K+	42
Bakteri	1	E.coli	105
	2	S.aureus	105

## Descriptive Statistics

Dependent Variable: Zona\_hambat

Sampel	Konsentrasi	Bakteri	Mean	Std. Deviation	N
madu 1	25%	E.coli	22,333	,5774	3
		S.aureus	23,333	,5774	3
		Total	22,833	,7528	6
	50%	E.coli	25,667	,5774	3
		S.aureus	28,000	,0000	3
		Total	26,833	1,3292	6
	75%	E.coli	27,333	,5774	3
		S.aureus	29,000	,0000	3
		Total	28,167	,9832	6

madu 2	100%	E.coli	31,000	1,0000	3
		S.aureus	30,667	1,1547	3
		Total	30,833	,9832	6
	K+	E.coli	21,667	1,5275	3
		S.aureus	21,000	1,0000	3
		Total	21,333	1,2111	6
	Total	E.coli	25,600	3,6214	15
		S.aureus	26,400	3,8135	15
		Total	26,000	3,6766	30
	25%	E.coli	,000	,0000	3
		S.aureus	22,333	2,3094	3
		Total	11,167	12,3194	6
	50%	E.coli	,000	,0000	3
		S.aureus	25,000	2,6458	3
		Total	12,500	13,7949	6
	75%	E.coli	28,333	1,1547	3
		S.aureus	28,333	1,5275	3
		Total	28,333	1,2111	6
100%	E.coli	30,667	,5774	3	
	S.aureus	30,333	2,5166	3	
	Total	30,500	1,6432	6	
K+	E.coli	20,333	,5774	3	
	S.aureus	19,000	1,7321	3	
	Total	19,667	1,3663	6	
Total	E.coli	15,867	13,8815	15	
	S.aureus	25,000	4,5981	15	
	Total	20,433	11,1716	30	
25%	E.coli	,000	,0000	3	
	S.aureus	,000	,0000	3	
	Total	,000	,0000	6	
50%	E.coli	28,333	1,1547	3	
	S.aureus	27,667	1,5275	3	
	Total	28,000	1,2649	6	
75%	E.coli	30,000	,0000	3	
	S.aureus	29,667	,5774	3	
	Total	29,833	,4082	6	
100%	E.coli	31,000	,0000	3	
madu 3					

		S.aureus	33,333	1,5275	3
		Total	32,167	1,6021	6
		E.coli	23,333	2,8868	3
	K+	S.aureus	20,333	2,5166	3
		Total	21,833	2,9269	6
		E.coli	22,533	12,0349	15
	Total	S.aureus	22,200	12,3647	15
		Total	22,367	11,9899	30
		E.coli	22,667	1,5275	3
	25%	S.aureus	24,000	2,0000	3
		Total	23,333	1,7512	6
		E.coli	26,333	1,5275	3
	50%	S.aureus	26,333	1,1547	3
		Total	26,333	1,2111	6
		E.coli	27,667	1,1547	3
	75%	S.aureus	29,000	1,0000	3
		Total	28,333	1,2111	6
		E.coli	30,000	1,7321	3
	100%	S.aureus	31,667	2,5166	3
		Total	30,833	2,1370	6
		E.coli	19,333	1,5275	3
	K+	S.aureus	19,333	2,0817	3
		Total	19,333	1,6330	6
		E.coli	25,200	4,1092	15
	Total	S.aureus	26,067	4,6517	15
		Total	25,633	4,3350	30
		E.coli	23,000	2,6458	3
	25%	S.aureus	26,333	2,0817	3
		Total	24,667	2,8048	6
		E.coli	26,333	1,1547	3
	50%	S.aureus	30,000	1,0000	3
		Total	28,167	2,2286	6
		E.coli	29,333	,5774	3
	75%	S.aureus	32,000	2,0000	3
		Total	30,667	1,9664	6
		E.coli	31,000	,0000	3
	100%	S.aureus	32,667	1,5275	3
		Total	31,833	1,3292	6

		E.coli	20,667	,5774	3
	K+	S.aureus	20,667	,5774	3
		Total	20,667	,5164	6
		E.coli	26,067	4,1312	15
	Total	S.aureus	28,333	4,7610	15
		Total	27,200	4,5288	30
		E.coli	23,667	2,3094	3
	25%	S.aureus	,000	,0000	3
		Total	11,833	13,0448	6
		E.coli	28,000	1,7321	3
	50%	S.aureus	26,667	1,5275	3
		Total	27,333	1,6330	6
		E.coli	30,333	2,5166	3
	75%	S.aureus	29,333	,5774	3
		Total	29,833	1,7224	6
madu 6		E.coli	31,667	2,8868	3
	100%	S.aureus	30,333	,5774	3
		Total	31,000	2,0000	6
		E.coli	20,000	1,7321	3
	K+	S.aureus	19,333	2,0817	3
		Total	19,667	1,7512	6
		E.coli	26,733	4,8766	15
	Total	S.aureus	21,133	11,6856	15
		Total	23,933	9,2473	30
		E.coli	,000	,0000	3
	25%	S.aureus	,000	,0000	3
		Total	,000	,0000	6
		E.coli	,000	,0000	3
	50%	S.aureus	23,667	1,5275	3
		Total	11,833	12,9987	6
		E.coli	21,333	,5774	3
madu 7	75%	S.aureus	25,667	,5774	3
		Total	23,500	2,4290	6
		E.coli	27,667	2,0817	3
	100%	S.aureus	27,667	2,0817	3
		Total	27,667	1,8619	6
		E.coli	16,667	1,1547	3
	K+	S.aureus	17,000	,0000	3

	Total	16,833	,7528	6
	E.coli	13,133	11,7100	15
Total	S.aureus	18,800	10,4622	15
	Total	15,967	11,2847	30
	E.coli	13,095	11,6915	21
25%	S.aureus	13,714	12,2806	21
	Total	13,405	11,8467	42
	E.coli	19,238	12,5336	21
50%	S.aureus	26,762	2,3432	21
	Total	23,000	9,6853	42
	E.coli	27,762	3,0644	21
75%	S.aureus	29,000	2,0000	21
	Total	28,381	2,6314	42
Total	E.coli	30,429	1,8048	21
	S.aureus	30,952	2,3340	21
100%	Total	30,690	2,0776	42
	E.coli	20,286	2,3694	21
K+	S.aureus	19,524	1,8873	21
	Total	19,905	2,1505	42
	E.coli	22,162	9,9587	105
Total	S.aureus	23,990	8,6207	105
	Total	23,076	9,3366	210

#### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Zona\_hambat

F	df1	df2	Sig.
24,293	69	140	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Sampel + Konsentrasi + Bakteri

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Zona\_hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10869,552 <sup>a</sup>	11	988,141	26,622	,000
Intercept	111827,219	1	111827,219	3012,805	,000
Sampel	2725,848	6	454,308	12,240	,000
Konsentrasi	7968,162	4	1992,040	53,669	,000
Bakteri	175,543	1	175,543	4,729	,031
Error	7349,229	198	37,117		
Total	130046,000	210			
Corrected Total	18218,781	209			

a. R Squared = ,597 (Adjusted R Squared = ,574)

### Estimated Marginal Means

#### 1. Grand Mean

Dependent Variable: Zona\_hambat

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
23,076	,420	22,247	23,905

#### 2. Sampel

Dependent Variable: Zona\_hambat

Sampel	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
madu 1	26,000	1,112	23,806	28,194
madu 2	20,433	1,112	18,240	22,627
madu 3	22,367	1,112	20,173	24,560
madu 4	25,633	1,112	23,440	27,827
madu 5	27,200	1,112	25,006	29,394
madu 6	23,933	1,112	21,740	26,127
madu 7	15,967	1,112	13,773	18,160

### 3. Konsentrasi

Dependent Variable: Zona\_hambat

Konsentrasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
25%	13,405	,940	11,551	15,259
50%	23,000	,940	21,146	24,854
75%	28,381	,940	26,527	30,235
100%	30,690	,940	28,837	32,544
K+	19,905	,940	18,051	21,759

### 4. Bakteri

Dependent Variable: Zona\_hambat

Bakteri	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
E.coli	22,162	,595	20,989	23,334
S.aureus	23,990	,595	22,818	25,163

### Post Hoc Tests

### Sampel

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona\_hambat

Tukey HSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	madu 2	5,567*	1,5731	,009	,881	10,253
madu 1	madu 3	3,633	1,5731	,245	-1,053	8,319
	madu 4	,367	1,5731	1,000	-4,319	5,053

	madu 5	-1,200	1,5731	,988	-5,886	3,486
	madu 6	2,067	1,5731	,845	-2,619	6,753
	madu 7	10,033*	1,5731	,000	5,347	14,719
	madu 1	-5,567*	1,5731	,009	-10,253	-,881
	madu 3	-1,933	1,5731	,882	-6,619	2,753
madu 2	madu 4	-5,200*	1,5731	,019	-9,886	-,514
	madu 5	-6,767*	1,5731	,001	-11,453	-2,081
	madu 6	-3,500	1,5731	,287	-8,186	1,186
	madu 7	4,467	1,5731	,073	-,219	9,153
	madu 1	-3,633	1,5731	,245	-8,319	1,053
	madu 2	1,933	1,5731	,882	-2,753	6,619
madu 3	madu 4	-3,267	1,5731	,371	-7,953	1,419
	madu 5	-4,833*	1,5731	,038	-9,519	-,147
	madu 6	-1,567	1,5731	,954	-6,253	3,119
	madu 7	6,400*	1,5731	,001	1,714	11,086
	madu 1	-,367	1,5731	1,000	-5,053	4,319
	madu 2	5,200*	1,5731	,019	,514	9,886
madu 4	madu 3	3,267	1,5731	,371	-1,419	7,953
	madu 5	-1,567	1,5731	,954	-6,253	3,119
	madu 6	1,700	1,5731	,933	-2,986	6,386
	madu 7	9,667*	1,5731	,000	4,981	14,353
	madu 1	1,200	1,5731	,988	-3,486	5,886
	madu 2	6,767*	1,5731	,001	2,081	11,453
madu 5	madu 3	4,833*	1,5731	,038	,147	9,519
	madu 4	1,567	1,5731	,954	-3,119	6,253
	madu 6	3,267	1,5731	,371	-1,419	7,953
	madu 7	11,233*	1,5731	,000	6,547	15,919
	madu 1	-2,067	1,5731	,845	-6,753	2,619
	madu 2	3,500	1,5731	,287	-1,186	8,186
madu 6	madu 3	1,567	1,5731	,954	-3,119	6,253
	madu 4	-1,700	1,5731	,933	-6,386	2,986
	madu 5	-3,267	1,5731	,371	-7,953	1,419
	madu 7	7,967*	1,5731	,000	3,281	12,653
	madu 1	-10,033*	1,5731	,000	-14,719	-5,347
madu 7	madu 2	-4,467	1,5731	,073	-9,153	,219
	madu 3	-6,400*	1,5731	,001	-11,086	-1,714
	madu 4	-9,667*	1,5731	,000	-14,353	-4,981

madu 5	-11,233*	1,5731	,000	-15,919	-6,547
madu 6	-7,967*	1,5731	,000	-12,653	-3,281

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 37,117.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

## Homogeneous Subsets

### Zona\_hambat

Tukey HSD

Sampel	N	Subset			
		1	2	3	4
madu 7	30	15,967			
madu 2	30	20,433	20,433		
madu 3	30		22,367	22,367	
madu 6	30		23,933	23,933	23,933
madu 4	30			25,633	25,633
madu 1	30			26,000	26,000
madu 5	30				27,200
Sig.		,073	,287	,245	,371

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 37,117.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

b. Alpha = ,05.

## Konsentrasi

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona\_hambat

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25%	50%	-9,595 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-13,255	-5,935
	75%	-14,976 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-18,636	-11,316
	100%	-17,286 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-20,946	-13,626
	K+	-6,500 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-10,160	-2,840
50%	25%	9,595 <sup>*</sup>	1,3295	,000	5,935	13,255
	75%	-5,381 <sup>*</sup>	1,3295	,001	-9,041	-1,721
	100%	-7,690 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-11,351	-4,030
	K+	3,095	1,3295	,140	-,565	6,755
75%	25%	14,976 <sup>*</sup>	1,3295	,000	11,316	18,636
	50%	5,381 <sup>*</sup>	1,3295	,001	1,721	9,041
	100%	-2,310	1,3295	,414	-5,970	1,351
	K+	8,476 <sup>*</sup>	1,3295	,000	4,816	12,136
100%	25%	17,286 <sup>*</sup>	1,3295	,000	13,626	20,946
	50%	7,690 <sup>*</sup>	1,3295	,000	4,030	11,351
	75%	2,310	1,3295	,414	-1,351	5,970
	K+	10,786 <sup>*</sup>	1,3295	,000	7,126	14,446
K+	25%	6,500 <sup>*</sup>	1,3295	,000	2,840	10,160
	50%	-3,095	1,3295	,140	-6,755	,565
	75%	-8,476 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-12,136	-4,816
	100%	-10,786 <sup>*</sup>	1,3295	,000	-14,446	-7,126

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 37,117.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

## Homogeneous Subsets

### Zona\_hambat

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
25%	42	13,405		
K+	42		19,905	
50%	42		23,000	
75%	42			28,381
100%	42			30,690
Sig.		1,000	,140	,414

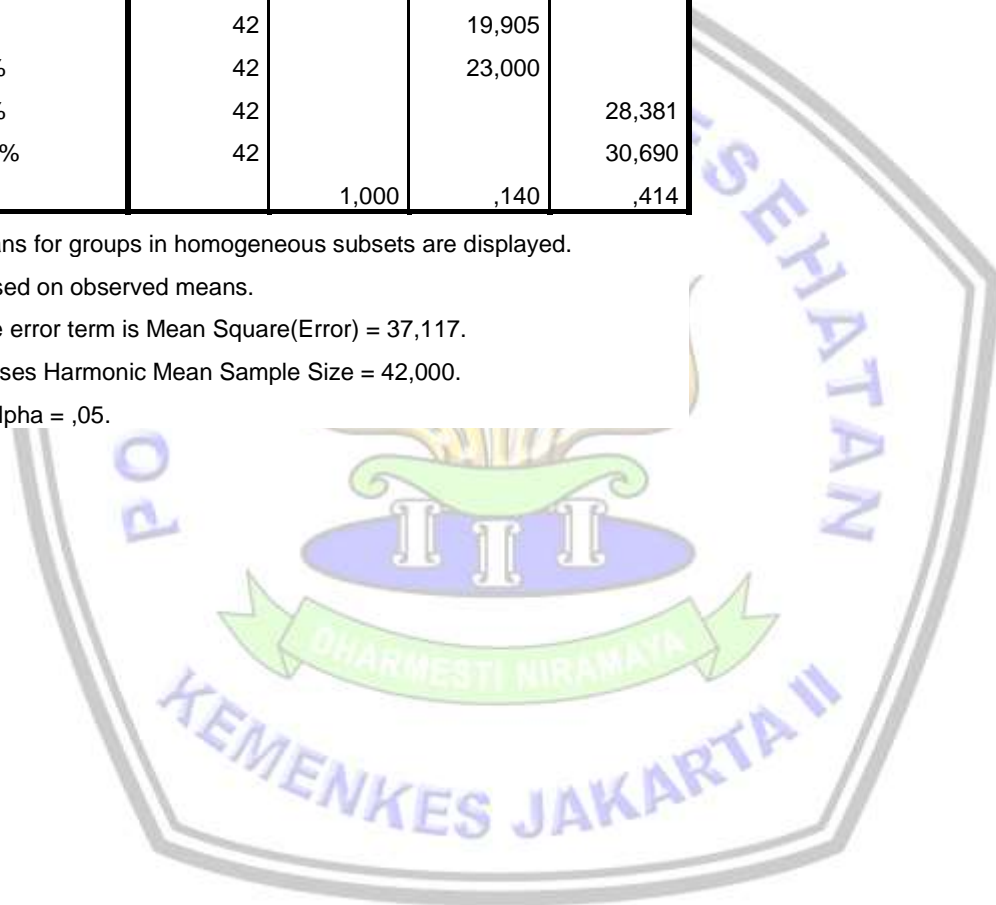
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 37,117.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 42,000.

b. Alpha = ,05.



## Lampiran 3. Dokumentasi Pribadi Hasil Pengujian



Sampel 1



Sampel 2



Sampel 3



Sampel 4



Sampel 5



Sampel 6

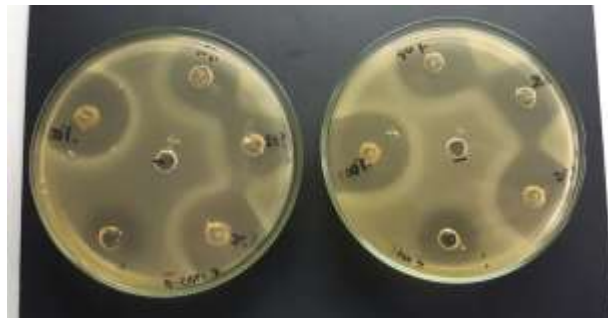


Sampel 7

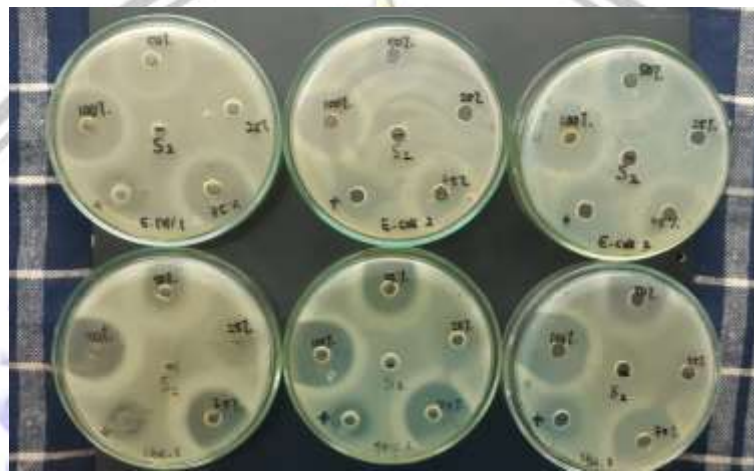
Gambar 1. Sampel Madu Gurah



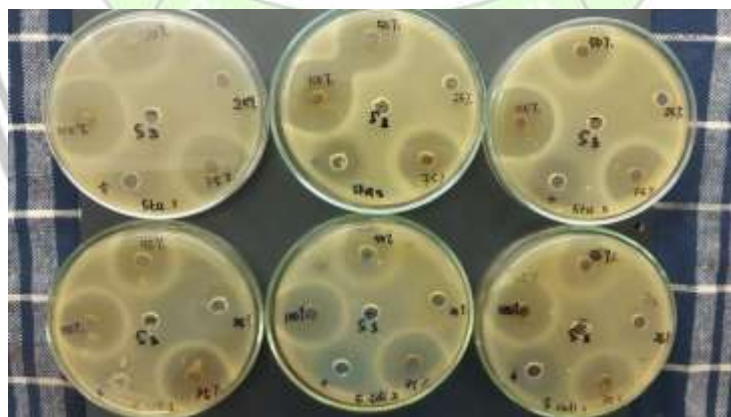
Gambar 2. Organoleptik Sampel



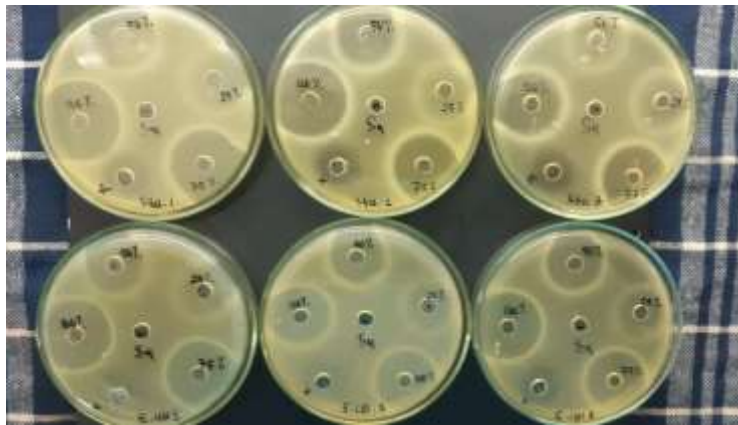
Gambar 3. Hasil Inkubasi Sampel 1



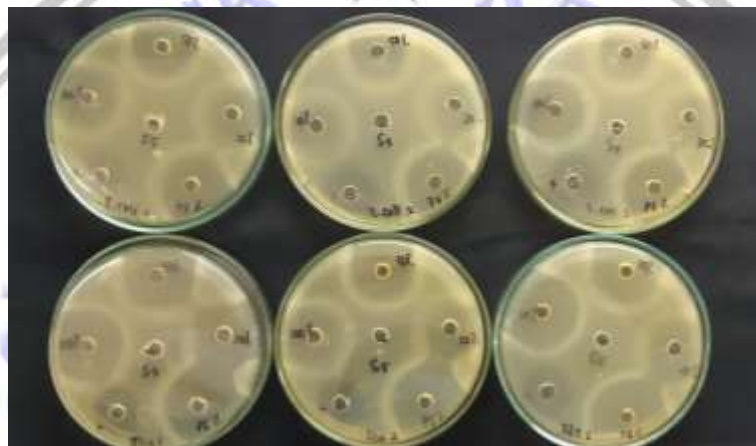
Gambar 4. Hasil Inkubasi Sampel 2



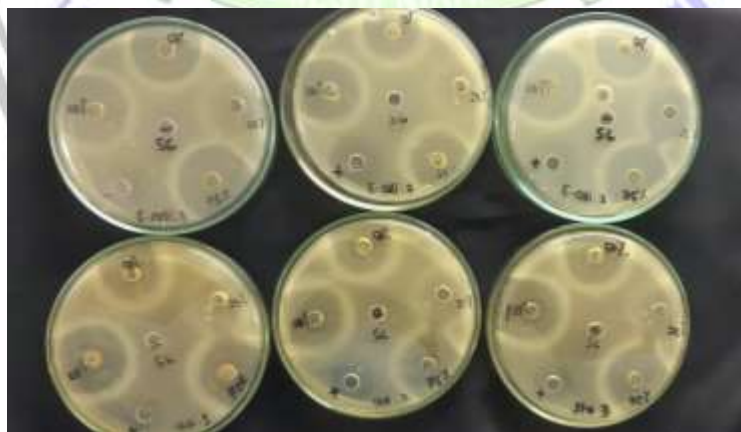
Gambar 5. Hasil Inkubasi Sampel 3



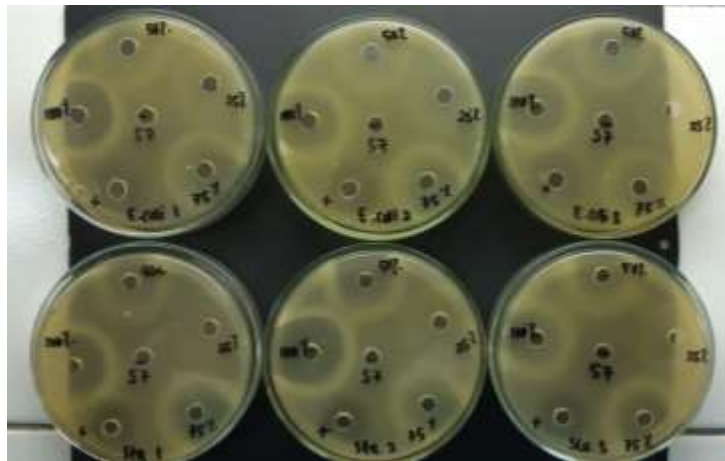
Gambar 6. Hasil Inkubasi Sampel 4



Gambar 7. Hasil Inkubasi Sampel 5



Gambar 8. Hasil Inkubasi Sampel 6



Gambar 9. Hasil Inkubasi Sampel 7



## Lampiran 4. Jadwal Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Madu Gurah

No.	Hari ke -	Uraian Kegiatan
1.	Hari ke – 1 5 Maret 2021	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Peminjaman alat, bahan dan persiapan pembuatan media pengenceran</li> <li>2. Isolasi bakteri <i>E.coli</i> ke dalam media EMBA</li> <li>3. Isolasi bakteri <i>S.aureus</i> ke dalam media MSA</li> </ol>
2.	Hari ke – 2 8 Maret 2021	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pengamatan</li> <li>2. Pembuatan media <i>Lactose Broth</i> (LB), <i>Nutrient Agar</i> (NA), serta pembuatan larutan NaCl 0,9%</li> <li>3. Inokulasi bakteri ke dalam media <i>Lactose Broth</i> (LB)</li> </ol>
3.	Hari ke – 3 9 Maret 2021	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pengamatan bakteri pada media LB</li> <li>2. Peremajaan bakteri ke dalam NaCl 0,9% (bandingkan dengan Mc Farland 0,5)</li> <li>3. Pembuatan dan pengisian sumur pada media NA (pengujian sampel 1)</li> </ol>
4.	Hari ke 4 – 7 10-13 Maret 2021	Pengamatan zona hambat bakteri disekeliling sumur (hasil)
5.	Hari ke 9 – 13 15-19 Maret 2021	Pengujian sampel 2, 3, 4
6.	Hari ke 16 – 20 22-26 Maret 2021	Pengujian sampel 5, 6,7

## Lampiran 5. Jumlah Kebutuhan Bahan

1. Media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)  
20 mL x 3 cawan = 60 mL ~ 80 mL
2. Media *Mannitol Salt Agar* (MSA)  
20 mL x 3 cawan = 60 mL ~ 80 mL
3. Media *Lactose Broth* (LB)  
5 mL x 8 tabung = 40 mL ~ 50 mL
4. Media *Nutrient Agar* (NA)  
20 mL x 6 Cawan x 7 Sampel = 840 mL ~ 850 mL
5. Larutan NaCl 0,9%  
10 mL x 8 tabung = 80 mL ~ 90 mL
6. Larutan Kloramfenikol 0,01%  
 $\frac{0,01 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 20 \text{ mL} = 0,0020 \text{ g} / 20 \text{ mL}$



