

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU AMBER DAN MADU
PUTIH TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*
multiresisten DAN *Staphylococcus aureus* resisten metisilin**

Penelitian mandiri

Tina Rostinawati, M.Si, Apt



**UNIVERSITAS PADJADJARAN
FAKULTAS FARMASI
JATINANGOR
2009**

ABSTRAK

Infeksi pada luka bakar merupakan suatu gangguan kronis pada kulit yang dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, namun belakangan ini banyak ditemukan kasus bahwa kedua bakteri tersebut telah resisten terhadap beberapa antibiotik. Untuk mengatasi infeksi bakteri tersebut maka perlu dilakukan pencarian senyawa alternatif yang berasal dari bahan alam yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua jenis bakteri tersebut. Salah satunya adalah dengan menggunakan madu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari madu amber dan madu putih terhadap *staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (*MRSA*) dan *Pseudomonas aeruginosa* Multi Resisten (*PaMR*). Penelitian dilakukan melalui tahap uji aktivitas antibakteri, penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan penentuan nilai banding aktivitas antibakteri yang berasal dari madu amber dan madu putih terhadap tetrasiklin. Hasil penelitian menunjukkan kedua madu memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri, dengan aktivitas antibakteri madu putih yang lebih kuat dibandingkan madu amber. Sedangkan madu putih dan madu amber memiliki aktivitas yang sama terhadap *PaMR*. KHM madu putih terhadap *MRSA* sebesar 7,1% dan terhadap *PaMR* sebesar 12,3%, sedangkan KHM madu amber terhadap *MRSA* sebesar 10% dan terhadap *PaMR* sebesar 12,5%. Nilai banding aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap tetrasiklin untuk *MRSA* secara berturut-turut sebesar $1 : 1,08 \times 10^4$ dan $1 : 1,62 \times 10^4$. Nilai banding aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap tetrasiklin untuk *PaMR* secara berturut-turut sebesar $1 : 5,62 \times 10^{-6}$ dan $1 : 1,03 \times 10^{-5}$.

Kata kunci: Infeksi Luka Bakar, Madu Amber, Madu Putih, *MRSA*, *PaMR*.

ABSTRACT

Infection of burn wound is a chronic disturbance to the skin which is caused by bacteria of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, but lately a lot of cases are found that both bacteria have been resistant to the antibiotic. To overcome the infection of those bacteria, so it's urgent to search the nature substance that has antibacterial activity to both bacteria. One of them is by using honey. This research aim is to find out the antibacterial activity from amber honey and white honey to the Metichillin Resistant staphylococcus aureus (MRSA) and pseudomonas aeruginosa Multiresistant (PaMR). Research is conducted by passing through the antibacterial test phase, determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and determination of comparison value of antibacterial activity from amber honey and white honey to tetracycline. The result of this research shows that both of amber honey and white honey has antibacterial activity to both bacteria, by way of stronger antibacterial activity from white honey than amber honey. Amber honey and white honey have same PaMR activity. MIC of white honey is 7,1% (to MRSA) and 12,3% (to PaMR), while the MIC of amber honey 10% (to MRSA) and 12,5% (to PaMR). The comparison value of antibacterial activity between amber honey and white honey to the tetracycline for MRSA is equal to $1 : 1,08 \times 10^4$ dan $1 : 1,62 \times 10^4$. The comparison value of antibacterial activity between amber honey and white honey to the tetracycline for PaMR is equal to $1 : 5,62 \times 10^6$ dan $1 : 1,03 \times 10^5$.

Keyword: Infection of Burn Wound , Amber Honey, White Honey, MRSA, PaMR.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT pemilik segala kesempurnaan dan kebaikan, shalawat serta salam tercurahkan bagi nabi dan rasul kita, Muhammad SAW, yang diutus untuk membawa rahmat bagi seluruh alam. Juga untuk keluarga dan sahabat beliau yang dirahmati oleh Allah SWT, semuanya tercurahkan sebagai bentuk rasa syukur atas selesainya penyusunan penelitian mandiri yang berjudul **“Aktivitas Antibakteri Madu Anber dan Madu Putih terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten.**

Hasil penelitian mandiri ini tentunya masih banyak memiliki kekurangan. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan penelitian ini.

Jatinangor, Februari 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Metode Penelitian	5
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Luka Bakar	6
2.1.1 Infeksi pada Luka Bakar	6
2.1.2 Bakteri Penyebab Infeksi Luka Bakar.....	7
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.2.1 Klasifikasi	8
2.2.2 Karakteristik	8

2.2.3 Patogenesis	10
2.2.4 <i>S. Aureus</i> Resisten Metisilin	11
2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
2.3.1 Klasifikasi	13
2.3.2 Karakteristik	14
2.3.3 Patogenesis	15
2.3.4 <i>P. Aeruginosa</i> multiresisten	18
2.4 Madu	19
2.4.1 Jenis dan Kualitas Madu	20
2.4.2 Komposisi	21
2.4.3 Pemanfaatan Madu	23
2.5 Zat Antibakteri	25
2.5.1 Penggolongan	25
2.5.2 Mekanisme Kerja	26
2.6 Pengujian Zat Antibakteri	26
2.6.1 Uji Aktivitas Bakteri	27
2.6.2 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	28
2.6.3 Penetapan Nilai Banding Aktivitas Antibakteri	28
2.6.4 Tetrasiklin	29
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Alat	31
3.2 Bahan	31
3.2.1 Madu	31

3.2.2 Bakteri Uji	31
3.2.3 Antibiotika Pembanding	32
3.2.4 Media Pertumbuhan Bakteri	32
3.3 Metode Penelitian	32
3.3.1 Analisis Kualitas Madu	32
3.3.2 Penyiapan Biakan Bakteri Uji <i>S. Aureus</i> resisten metisilin Dan <i>P. Aeruginosa</i> multiresisten.....	34
3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji	34
3.3.4 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Madu Amber dan madu Putih terhadap Bakteri Uji	34
3.3.5 Uji Banding Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Tetrasiklin.....	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Analisis Kualitas Madu Amber dan Madu Putih.....	36
4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji	37
4.3 Hasil Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji	38
4.4 Hasil Uji Banding Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Tetrasiklin	39

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2 <i>S. aureus</i> pada pewarnaan Gram	9
2.3 Bakteri <i>Pseudomonas. aeruginosa</i>	13
2.4 <i>P. aeruginosa</i> pada pewarnaan Gram	15
2.5 Faktor – faktor virulensi <i>P. aeruginosa</i>	16
2.6 Struktur kimia tetrasiklin	29
4.1 Kurva baku tetrasiklin terhadap <i>MRSA</i> dengan persamaan $Y = 9,1219x + 7,2792$, dengan $R^2 = 0,9822$	40
4.2 Kurva uji aktivitas madu putih dan madu amber terhadap <i>MRSA</i> ..	40
4.3 Kurva baku tetrasiklin terhadap <i>PaMR</i> dengan persamaan $Y = 3,048x + 14,396$, dengan $R^2 = 0,9707$	43
4.4 Kurva uji aktivitas madu putih dan madu amber terhadap <i>PAMR</i>	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri <i>S. aureus</i>	9
2.2 Virulensi dari patogenitas <i>P.aeruginosa</i>	17
2.3 Persyaratan Mutu Madu.....	21
2.4 Komposisi Madu.....	22
4.1 Hasil Analisis Kualitas Madu Amber dan Madu Putih	36
4.2 Hasil Uji Aktivitas Madu Amber dan Madu Putih terhadap <i>MRSA</i> dan <i>PaMR</i>	37
4.3 Hasil Penetapan KHM Madu Amber dan Madu Putih terhadap <i>MRSA</i> dan <i>PaMR</i>	38
4.4 Data Perbandingan Aktivitas Antibakteri Tetrasiklin, Madu Amber dan Madu Putih terhadap <i>MRSA</i>	39
4.5 Data Perbandingan Aktivitas Antibakteri Tetrasiklin, Madu Amber dan Madu Putih terhadap <i>PaMR</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
A AKTIVITAS ANTIBAKTERI	51
B HASIL PENETAPAN KHM	53
C UJI BANDING AKTIVITAS ANTIBAKTERI TETRASIKLIN .	55
D UJI RESISTENSI <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
E UJI RESISTENSI <i>Staphylococcus aureus</i>	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permasalahan kesehatan di masyarakat yang tidak pernah dapat diatasi secara tuntas salah satunya adalah infeksi. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dilaporkan masih menjadi masalah kesehatan penting di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia (Muhaimin et al, 2003). Salah satu jenis infeksi yaitu infeksi pada luka bakar yang mengakibatkan peneranaan. Luka bakar merupakan kerusakan pada kulit yang disebabkan oleh kontak langsung dengan panas (api, benda panas), zat kimia dan listrik (Departemen Kesehatan Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1997). Luka bakar ini apabila tidak cepat diobati akan menimbulkan terjadinya infeksi karena adanya jaringan mati yang akan menjadi tempat yang subur untuk tumbuhnya bakteri. Hasil dari infeksi ini berupa timbulnya nanah (Kuntaman, 2007). Infeksi luka bakar bernanah pada interval mingguan dari salah satu kasus di rumah sakit Da Asa Norte Brasil, telah dilaporkan terdapat adanya bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 28,4% dan *Pseudomonas aeruginosa* sebanyak 26,9% (Macedo, 2005).

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, aerob, dan bergerak dengan menggunakan flagel, dan merupakan bakteri oportunistk. Infeksi *P. aeruginosa* menimbulkan penyakit di berbagai jaringan antara lain pada saluran pernapasan, mata, saluran kemih, dan kulit (Ketchum, 1998., Todar, 2004). Selama ini pengobatan terhadap infeksi *P. aeruginosa* menggunakan antibiotik

golongan penisilin, golongan sefalosporin, golongan aminoglikosida dan golongan fluorokuinolon. Dilaporkan oleh *European epic study P. aeruginosa* telah mengalami resisten terhadap beberapa antibiotik : gentamisin (46%), imipenem (21%), seftazidim (27%), siprofloksasin (26%), dan ureidopenisilin (37%) (Dwiprahasto, 2005, Katzung, 2001).

S. aureus merupakan bakteri Gram positif, bulat, tersusun dalam rangkaian tak beraturan seperti anggur, mudah tumbuh dalam berbagai perbenihan dan mempunyai metabolisme aktif, serta menghasilkan pigmen yang bervariasi dari warna putih sampai kuning tua. *S. aureus* dapat menyebabkan pernanahan, abses, dll (Jawetz, 1996). Kini sekitar 40% dari bakteri *S. aureus* yang dapat diisolasi di rumah sakit, diketahui resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, namun masih sensitif terhadap vankomisin, *clindamycin*, trimetoprim-sulfametoksazol, gentamisin (Aguilar *et al*, 2003). Salah satu jenis *Staphylococcus aureus* yang telah resisten yaitu *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (*MRSA*). *MRSA* menyebar luas sebagai patogen dalam bentuk sekumpulan bakteri, selain resisten terhadap metisilin *MRSA* juga kini telah resisten terhadap penisilin, oxasilin, dan eritromisin (Karchmer, 2006). Dengan ditemukannya beberapa kasus resistensi tersebut, biaya pengobatan dan status kondisi penyakit pasien akan lebih tinggi. Oleh karena itu salah satu alternatif pengobatan infeksi luka bakar selain dengan antibiotik yaitu yang berasal dari bahan alam.

Madu dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenus* (Mullai, 2005). Madu merupakan cairan alami dari sari bunga (floral nektar) atau

bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar) yang dikumpulkan lebah madu (Miraglio, 2002). Madu putih dan madu amber merupakan contoh jenis madu berdasarkan warnanya. Madu putih memiliki konsistensi lebih tinggi dibandingkan dengan madu amber (Zewdi, 2007). Aktivitas antibakteri pada madu, disebabkan oleh kandungan kadar gula madu yang tinggi, hidrogen peroksida (H_2O_2), tingkat keasaman madu yang tinggi, dan senyawa organik (polifenol, flavonoid, dan glikosida) yang bersifat antibakteri. Kadar gula yang tinggi akan menghambat pertumbuhan bakteri sehingga bakteri tak dapat hidup dan berkembangbiak. Adanya senyawa radikal hidrogen peroksida yang diproduksi secara enzimatik membuat madu memiliki pH yang sangat asam sehingga dapat membunuh mikroorganisme yang sifatnya patogen (Kamaruddin, 1997).

Berdasarkan atas informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap bakteri pada luka bakar bernanah, maka perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin (*MRSA*) dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten (*PaMR*).

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana aktivitas antibakteri dari madu amber dan madu putih terhadap bakteri *MRSA dan PaMR*.
2. Berapa konsentrasi hambat minimum (KHM) madu amber dan madu putih terhadap kedua bakteri tersebut.
3. Bagaimana efektivitas kedua jenis madu tersebut terhadap bakteri *MRSA* dan *PaMR*, jika dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap bakteri *MRSA dan PaMR* melalui uji aktivitas antibakteri, penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan penetapan nilai banding aktivitas antibakteri terhadap antibiotik tetrasiklin.

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri dari madu amber dan madu putih terhadap *MRSA dan PaMR*. Hasil penelitian diharapkan menjadi dasar penelitian madu sebagai obat alternatif untuk menangani penyakit infeksi yang disebabkan oleh kedua bakteri tersebut.

1.5 Metode Penelitian

Penelitian ini secara eksperimental dilakukan di laboratorium dengan tahapan sebagai berikut :

1. Penyiapan sampel madu amber dan madu putih.
2. Analisis kualitas madu amber dan madu putih.
3. Penyiapan bakteri uji *MRSA dan PaMR*.
4. Uji aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap kedua bakteri uji.
5. Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari madu amber dan madu putih terhadap *MRSA dan PaMR*.
6. Uji banding aktivitas antibakteri kedua jenis madu tersebut dengan antibiotik tetrasiklin.
7. Pengolahan data.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan April 2008 sampai dengan bulan Januari 2009, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka bakar

Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi (Moenadjat, 2003). Kulit atau jaringan tubuh yang terbakar akan menjadi jaringan nekrotik. Jaringan nekrotik yang tidak dapat dibuang segera dan melekat pada tubuh penderita untuk waktu yang relatif cukup lama akan mengundang infeksi pada pengelolaannya (Connors, 1992).

2.1.1 Infeksi Pada Luka Bakar

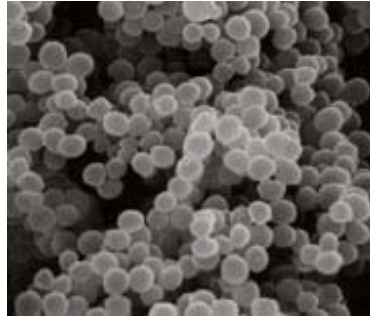
Berat – ringan luka bakar, ditinjau dari kedalaman dan kerusakan jaringan. Hal ini ditentukan oleh peran beberapa faktor, antara lain penyebab (api, air panas, ledakan, bahan kimia, listrik) dan lama kontak antara tubuh dengan sumber panas. Adanya suatu infeksi memungkinkan luka bakar berubah menjadi luka bakar yang lebih dalam (Marzoeki, 1991 dan Wise, 1984). *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dapat menginfeksi hampir setiap jaringan atau lokasi tubuh dan penyebab sepsis yang dijumpai pada pasien di unit perawatan intensif. Bakteri tersebut sering menginfeksi pasien luka bakar derajat II dan III, dengan nanah hijau kebiruan yang disebabkan pigmen piosianin (Mayasari, 2005).

2.1.2 Bakteri Penyebab Infeksi Luka Bakar

Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan jenis bakteri yang berperan dalam timbulnya infeksi pada luka bakar (Jawetz, 1996; Mayasari, 2005). Cara penyebaran utama kedua bakteri ini biasanya melalui kontaminasi di lingkungan rumah sakit melalui alat-alat kesehatan, alat bantu pernapasan, petugas kesehatan, pencemaran makanan dan minuman yang terkontaminasi, ataupun melalui kontak udara atau kontak langsung dengan pasien yang beresiko tinggi terkena infeksi kedua jenis bakteri ini yaitu *P. aeruginosa* dan *S. aureus* (Todar, 2004; Foca *et al.*, 2000; Brien *et al.*, 2004).

2.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan sel Gram positif bulat biasanya tersusun dalam rangkaian tak beraturan seperti anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia; lainnya menyebabkan pembedahan, abses, dll. (Jawetz, 1996). *S. aureus* dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi, dari yang ringan (jerawat, bisul, dan sebagainya) sampai yang berat (osteomielitis, endokarditis, dan furunkulosis). *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial pada luka pasca operasi (T. Foster, 2007).



Gambar 2.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Klasifikasi

Staphylococcus aureus memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus Aureus</i>

(G.M. Garrity, *et al.*, 2007).

2.2.2 Karakteristik

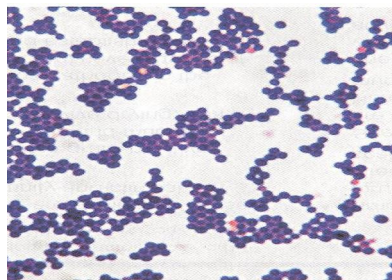
S. aureus merupakan suatu bakteri yang dapat memproduksi toksin, Gram positif, dan termasuk bakteri aerob. Bakteri ini dapat mengkontaminasi makanan dan meracuni makanan. *S. aureus* merupakan bakteri yang pada umumnya tumbuh di atas lapisan mukosa kulit dan selaput lendir pada manusia. *S. aureus*

biasanya tak merugikan tapi ada kalanya menyebabkan infeksi dan sakit parah (T.C. Parker, 2000).

Tabel 2.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* (T.C. Parker, 2000).

Faktor	Pertumbuhan <i>S. aureus</i> Maksimal
Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	37
pH	6 – 7
Aktivitas air (aW)	0,98
NaCl (%)	0
Potensial oksidasi	>200 mV
Atmosfir	Aerob

Bakteri ini dapat bertahan hidup dalam keadaan kering pada benang, kain, dan nanah selama 6 – 14 minggu, bahkan pada agar miring sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar (U.C. Warsa, 1994). Bentuk mikroskopik *S. aureus* dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2 *S. aureus* pada pewarnaan Gram

Struktur antigen yang diproduksi oleh *S. aureus* diantaranya ialah asam teikoat, yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, berikatan dengan peptidoglikan dan menjadi bersifat antigenik. Antibodi antiteikoat, yang dapat dideteksi dengan difusi gel dapat ditemukan pada penderita endokarditis aktif yang disebabkan *S. aureus*. Struktur antigen yang lain yaitu protein A yang merupakan komponen dinding sel kebanyakan strain *S. aureus* yang terikat pada bagian Fc molekul IgG, kecuali IgG3. Bagian Fab pada IgG yang terikat pada protein A bebas untuk berikatan dengan antigen spesifik. Protein A merupakan reagen penting dalam imunologi dan teknologi diagnostik laboratorium (Jawetz, *et al.*, 1996).

2.2.3 Patogenesis

S. aureus dapat menyebabkan infeksi bakteri pada kulit umumnya dalam bentuk impetigo, abses, dan luka lecet yang terinfeksi, sebagai tambahan sindroma “scalded skin” (luka bakar) yang disebabkan oleh strain *S. aureus* (Chin, 2000). *S. aureus* menyebabkan keracunan makanan karena adanya enterotoksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang terdapat pada makanan yang tercemar. Gejala yang muncul akibat keracunan makanan ini yaitu sakit kepala, mual, muntah, disertai diare yang muncul setelah empat sampai lima jam mengkonsumsi makanan tersebut (Salmenlina, 2002). Enterotoksin lain yaitu *Toxic Shock Syndrom Toxin* (TSST-1) yang dihasilkan *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit *Toxic Shock Syndrom* (TSS). Enterotoksin ini dapat tumbuh di tampon sehingga dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan gejala-gejala TSS.

Gejala-gejala yang muncul antara lain demam tinggi, muka memerah, pengelupasan kulit, dan hipotensi. TSS merupakan penyakit yang serius yang dapat menyebabkan pembusukan jaringan (Salmenlina, 2002; Salyers & Dixie, 1994).

Berbagai infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* dimediasi oleh faktor virulen dan respon imun sel inang. Secara umum bakteri menempel ke jaringan sel inang kemudian berkoloni dan menginfeksi. Selanjutnya bertahan, tumbuh, dan mengembangkan infeksi berdasarkan kemampuan bakteri untuk melawan pertahanan tubuh sel inang. Respon sel inang dimediasi oleh leukosit yang diperoleh dari ekspresi molekul adhesi pada sel endotel. Komponen dinding sel *S. aureus* yaitu peptidoglikan dan asam teikoat, memacu pelepasan sitokin. Leukosit dan faktor sel inang lainnya dapat dirusak secara lokal oleh toksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Selain itu adanya protein adheren ekstraseluler mengakibatkan respon anti inflamasi. Protein ini juga menghambat sekresi leukosit sel inang dengan cara berinteraksi langsung dengan protein adhesif sel inang, dan fibrinogen. Apabila tubuh tidak cukup berhasil mengatasi infeksi tersebut maka akan terjadi inflamasi lokal (Todar, 2004).

2.2.4 *S. aureus* Resistan Metisilin

S. aureus pertama kali menjadi patogen penting rumah sakit pada tahun 1940-an. Pengobatan infeksi ini menggunakan penisilin G (benzil penisilin) yang merupakan antimikroba golongan β -laktam. Satu dekade kemudian muncul strain resisten penisilin. Strain ini menginaktivasi antimikroba yang memiliki cincin

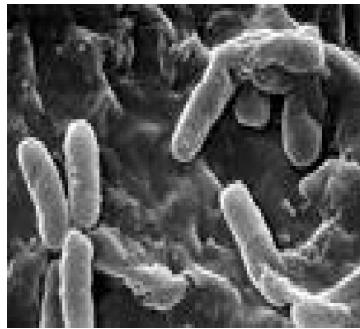
enzim β -laktam. Enzim ini menghidrolisis ikatan amida siklik yang berikatan dengan cincin β -laktam sehingga menimbulkan hilangnya aktivitas antibakterisidal antimikroba tersebut, oleh karena itu dikembangkanlah usaha untuk mendapatkan obat yang tahan terhadap β -laktamase (Salmenlina, 2002).

Metisilin merupakan penisilin modifikasi yang diperkenalkan pada tahun 1960-an. Antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap sebagian besar penisilin. Pada tahun 1961 strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin ditemukan (Jutti, 2004).

Resistensi metisilin terjadi karena adanya perubahan protein pengikat penisilin (PBP). Mekanisme resistensi *S. aureus* terhadap metisilin dapat terjadi melalui pembentukan PBP lain yang sudah dimodifikasi, yaitu PBP2a yang mengakibatkan penurunan afinitas antimikroba golongan β -laktam. Suatu strain yang resisten terhadap metisilin berarti akan resisten juga terhadap semua derivat penisilin, sefalosporin dan karbapenem. Penisilin bekerja dengan mengikat pada beberapa PBP dan membunuh bakteri dengan mengaktifasi enzim autolitiknya sendiri. Pembentukan PBP2a ini menyebabkan afinitas terhadap penisilin menurun sehingga bakteri tidak dapat diinaktivasi. PBP-2a ini dikode oleh gen *mecA* yang berada dalam transposon (Salmenlina, 2002).

2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa merupakan sel Gram negatif, aerob, dan bergerak menggunakan flagel. *P. aeruginosa* merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri ini kadang-kadang mengkoloni pada manusia dan menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan inang abnormal. Bakteri ini dapat juga tinggal pada manusia yang normal dan berlaku sebagai saprofit pada usus normal dan pada kulit manusia (Ketchum, 1998;Todar, 2004).



Gambar 2.3 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

2.3.1 Klasifikasi

Pseudomonas aeruginosa memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadinae
Familia	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas

Species : *Pseudomonas aeruginosa*

(Holt *et al.*, 1994).

P. aeruginosa termasuk ke dalam famili *Pseudomonadaceae*. *Pseudomonadaceae* dan beberapa genus lain bersama beberapa organisme tertentu dikenal sebagai *Pseudomonad*. Istilah *Pseudomonad* ditunjukkan pada bakteri yang mempunyai perlengkapan fisiologik sama dengan bakteri dari genus *Pseudomonas*. Beberapa bakteri ini pada awalnya termasuk genus *Pseudomonas* tetapi kemudian dipindahkan ke genus atau famili lain karena jauhnya jarak filogenik bakteri-bakteri tersebut dari genus *Pseudomonas* (Todar, 2004).

2.3.2 Karakteristik

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2 μm , ditemukan tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung (*sheath*), serta mempunyai flagel (Madigan *et al.*, 2003; Jawetz *et al.*, 2001). Namun bakteri ini kadang-kadang memiliki dua atau tiga flagel sehingga selalu bergerak (Todar, 2004). Bentuk mikroskopik *P. aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 2.4.



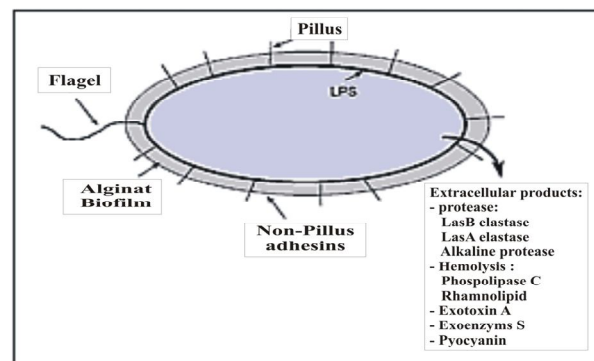
Gambar 2.4 *P. aeruginosa* pada pewarnaan Gram

P. aeruginosa menghasilkan satu atau lebih pigmen, yang dihasilkan dari asam amino aromatik seperti tirosin dan fenilalanin. Beberapa pigmen tersebut antara lain: piosianin (pigmen berwarna biru), pioverdin (pigmen berwarna kuning), piorubin (pigmen berwarna merah), dan piomelanin (pigmen berwarna coklat). Koloni *P. aeruginosa* mengeluarkan bau manis atau menyerupai anggur. Beberapa *strain* dari *P. aeruginosa* dapat menghemolisis darah (Jawetz *et al.*, 2001; Todar, 2004).

2.3.3 Patogenesis

P. aeruginosa merupakan suatu bakteri yang bersifat oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Apabila mikroorganisme berada di dalam inang yang sistem kekebalannya telah terganggu, mikroorganisme dapat melintasi penghalang anatomi setelah luka bakar, pembedahan, dan mikroorganisme terbawa masuk melalui kateter, alat

penyuntik, dan respirator yang terkontaminasi (Volk A Wesley, 1988). Faktor-faktor virulensi *P. aeruginosa* dapat dilihat pada gambar 2.5. Pelekatan bakteri ke sel epitel merupakan tahap awal infeksi yang seringkali diperantarai oleh pili. Pili (fimbriae) menjulur dari permukaan sel dan membantu pelekatan pada sel epitel inang (Ryan&Falcow, 1994).



Gambar 2.5 Faktor-faktor virulensi *P. aeruginosa*

Lipopolisakarida merupakan salah satu faktor virulensi yang melindungi sel *P. aeruginosa* dari pertahanan tubuh inang. *P. aeruginosa* dapat digolongkan berdasarkan lipopolisakarida dan kepekaan terhadap piosin (bakteriosin) (Todar, 2004).

Produk ekstraseluler yang dihasilkan berupa enzim-enzim yaitu elastase, protease, dua hemolisin, fosfolipase C yang tidak tahan panas dan rhamnolipid. Fosfolipase C yang dapat menghidrolisis lesitin belum dapat diketahui toksisitas dan mekanismenya dalam infeksi sel inang. Beberapa *strain P. aeruginosa* menghasilkan protein leukosidin yang tidak tahan terhadap suhu yang ekstrim.

Protein ini dapat menghancurkan leukosit dari beberapa spesies termasuk manusia. Protein lainnya yaitu leukosidin (sitotoksin) dapat merusak limfosit dan beberapa jaringan kultur sel serta bersifat toksik terhadap tikus dengan dosis 1 µg (minimum letal dosis) (Todar, 2004; Jawetz *et al.*, 2001).

Banyak *strain P. aeruginosa* memproduksi polisakarida ekstraseluler, yang diisolasi hanya dari infeksi paru-paru kronik. Mekanisme patogenesis belum diketahui secara pasti tetapi polisakarida ini dapat menghalangi fagositosis, menghalangi difusi dari antibiotika dengan cara bakteri dilindungi oleh lapisan alginat (Todar, 2004).

Tabel 2.2 Virulensi dari patogenitas *P.aeruginosa* (Todar, 2004).

Faktor virulensi	Zat virulen
Adhesi	<i>fimbriae</i> (pili <i>N-methyl-phenylalanine</i>), kapsul polisakarida (<i>glycocalyx</i>), alginat (biofilm)
Invasi	elastase, alkaline protease, hemolisis (fosfolipase dan lesitinase), sitotoksin (leukosidin), <i>siderophores</i> , pigmen piosianin
Pergerakan	Flagel
Toksin	Eksoenzim S, Eksotoksin A, Lipopolisakarida (LPS)
Antifagosititas permukaan	Kapsul, <i>slim layers</i> , LPS
Serum untuk melawan reaksi bakterisidal	<i>slim layers</i> , kapsul, LPS, enzim protease
Respon pertahanan imun	<i>slim layers</i> , kapsul, enzim protease

Sifat genetik	Perubahan genetik dengan cara transduksi dan konjugasi yang melekat secara alami pada faktor R obat dan plasmid resistensi obat
Kriteria ekologi	Penyesuaian dalam nutrisi minimal syarat perbedaan metabolit sehari-hari dalam varietas habitat.

2.3.4 *P. aeruginosa* Multiresisten

Beberapa mikroorganisme secara alami resisten terhadap antibiotik. Resistensi dapat merupakan sifat alami suatu mikroorganisme, atau merupakan resistensi dapatan (Madigan *et al.*, 2003). *P. aeruginosa* multiresisten dikenal karena kemampuannya bertahan terhadap beberapa jenis antibiotik. Oleh karena itu *P. aeruginosa* merupakan patogen yang berbahaya dan mematikan. Bakteri tersebut secara alami resisten terhadap berbagai jenis antibiotik karena memiliki membran luar yang membatasi pemasukan antibiotik ke dalam membran sitoplasma, karena antibiotik harus berdifusi terlebih dahulu melalui pori-pori yang terdapat pada membran luar (Madigan, *et al.*, 2003).

Resistensi antibiotik secara genetik dikode oleh gen yang terletak di kromosom atau plasmid (plasmid R/ resisten). Mayoritas bakteri yang resisten terhadap antibiotik disebabkan adanya gen resistensi yang terletak pada plasmid R, dengan mekanisme resistensi yang berbeda dari resistensi kromosom. Pada resistensi antibiotik yang dikode oleh gen dalam kromosom, resistensi terjadi melalui modifikasi target antibiotik. Resistensi yang dikode gen dalam plasmid R

disebabkan enzim yang menginaktivasi obat atau enzim secara aktif memompa obat keluar sel (Madigan *et al.*, 2003).

Plasmid pada *P. aeruginosa* bertindak sebagai gen resistensi terhadap antibiotik. Proporsi *strain P. aeruginosa* yang membawa transmisi ekstrakromosomal untuk resistensi masih agak rendah. *P. aeruginosa* juga memiliki resistensi secara alami terhadap antibiotik. Resistensi alami dihasilkan dari sifat struktur dinding sel Gram negatif dan kecenderungan untuk membuat pertahanan biofilm (Todar, 2004). Contohnya, pada antibiotik gentamicin (46%), imipenem (21%), ceftazidime (27%), ciprofloxacin (26%), dan ureidopenicillin (37%) (Dwiprahasto, 2005).

2.4 Madu

Madu adalah cairan alami yang berasa manis, yang dikumpulkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar), yang selanjutnya mengalami proses penambahan senyawa tertentu, proses dehidrasi dan pematangan (Benech, 2004). Madu telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit infeksi, seperti infeksi pada saluran pernafasan, gastrointestinal, dan luka-luka pada kulit (Mulu, *et al.*, 2004). Sumber nektar sangat menentukan rasa, warna, aroma, dan manfaat madu (A. Suranto, 2004).

2.4.1 Jenis dan Kualitas Madu

Jenis madu ditentukan oleh jenis bunga yang menjadi sumber nektar, karena setiap bunga dapat menghasilkan warna, rasa, dan aroma madu yang berbeda. Sampai saat ini, terdapat lebih dari 300 varietas madu (Caron, 2004).

Madu umumnya diberi nama sesuai dengan sumber nektarnya, sehingga terdapat berbagai nama madu di pasaran seperti madu apel, madu kapuk, madu lengkung, madu beringin, dan sebagainya (A. Suranto, 2004).

Berdasarkan asal cairan yang diambil oleh lebah, madu dibedakan atas tiga jenis yaitu madu nektar, honey dew dan madu buatan. Madu nektar berasal dari cairan nektar baik dari satu macam bunga (monoflora), beberapa macam bunga (polyflora) ataupun dari lain-lain bagian tanaman selain bunga (extraflora). Honey dew berasal dari cairan manis yang dikeluarkan oleh insekta pengisap tanaman yang dikumpulkan dan disimpan oleh lebah di dalam sarangnya. Sedangkan madu buatan adalah madu yang berasal dari cairan gula yang dikumpulkan dan disimpan (A. Suranto, 2004).

Berdasarkan warnanya, madu dapat dibedakan menjadi beberapa jenis, yaitu jernih (*water white*), amber, hitam (*dark amber*), putih (*white*) (National Honey Board, 2001). Madu amber telah diketahui mempunyai aktivitas bakteristatik dan bakterisida, baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Mulu, *et al.*, 2004). Madu hitam mempunyai rasa pahit dan memiliki kandungan zat antioksidan yang lebih banyak dibandingkan kedua madu lainnya (Ismail, 2007) dan madu putih mempunyai rasa yang sangat manis, aroma yang khas, dan *after taste* yang kuat (Sukartiko, 1986).

Badan Standarisasi Nasional mengeluarkan SNI (Standar Nasional Indonesia) tentang madu yang mensyaratkan sepuluh uji kualitas dari madu.

Tabel 2.3 Persyaratan Mutu Madu (Badan Standarisasi Nasional, 2004)

No.	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	Aktivitas enzim diatase, min.	DN	3
2	Hidroksimetilfulfural (HMF),maks.	mg/kg	50
3	Air,maks.	%b/b	22
4	Gula pereduksi (dihitung sebagai glukosa),min.	%b/b	65
5	Sukrosa, maks.	%b/b	5
6	Keasaman, maks	mL NaOH 1 N/kg	50
7	Padatan yang tidak larut dalam air, maks.	%b/b	0,5
8	Abu, maks.	%b/b	0,5
9	Cemaran logam timbal (Pb), maks.	mg/kg	1,0
	Tembaga (Cu),maks.	mg/kg	5,0
10	Cemaran arsen (As), maks.	mg/kg	0,5

Keterangan : DN = *Diatase Number*

2.4.2 Komposisi

Komposisi kimia dari madu bervariasi tergantung dari sumber tanaman, musim dan metode produksi. Kondisi penyimpanan juga bisa mempengaruhi komposisi akhirnya dengan proporsi disakarida yang meningkat setiap waktu. Dua kandungan gula yang utama pada madu yaitu fruktosa (sekitar 38%) dan glukosa (sekitar 31%) sisanya berupa sukrosa (sekitar 1%), disakarida, oligosakarida, asam glukonat serta asam-asam lain dengan sedikit protein, enzim (termasuk glukosa oksidase), asam-asam amino dan mineral (White, *et al.*, 1960; White, 1975).

Madu juga tersusun atas beberapa molekul gula seperti glukosa dan fruktosa serta sejumlah mineral seperti magnesium, kalium, potasium, sodium, klorin, sulfur, besi dan fosfat. Madu juga mengandung vitamin B1, B2, C, B6 dan B3 yang komposisinya berubah-ubah sesuai dengan kualitas madu bunga dan serbuk sari yang dikonsumsi lebah. Di samping itu di dalam madu terdapat pula tembaga, yodium dan seng dalam jumlah yang kecil, juga beberapa jenis hormon (Susilo, 2004). Kandungan nutrisi madu dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.4 Komposisi Madu (per 100g) (Susilo, 2004).

Madu	
Zat gizi :	
Energi (kkalori)	304
protein (g)	0.3
karbohidrat (g)	82.3
Serat (g)	0.1
Vitamin :	
Vitamin b6 (mg)	0.02
Vitamin C (mg)	1
Riboflavin (mg)	0.04
Niasin (mg)	0.3
Pantotenat (mg)	0.2
Asam Folat (mg)	3
Mineral :	
Kalsium (mg)	5
Fosfor (mg)	6
Natrium (mg)	5
Kalium (mg)	51
Magnesium (mg)	3
Fe (mg)	0.5
Zn (mg)	0.1
Copper (mg)	0.2

2.4.3 Pemanfaatan Madu

Madu mempunyai berbagai manfaat, diantaranya dapat digunakan dalam pengobatan penyakit infeksi, karena mempunyai aktivitas antibakteri. Madu diketahui mempunyai aktivitas bakterisida dan bakteriostatik terhadap bakteri, baik terhadap Gram positif ataupun Gram negatif (Mulu, *et al.*, 2004). Madu juga terbukti mempunyai aktivitas terhadap beberapa bakteri, diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenus*, dan *Salmonella typhimurium* (Wilix *et al.*, 1992).

Aktivitas antibakteri tersebut berhubungan dengan karakteristik dan kandungan kimia madu. Reaksi yang dikatalis enzim glukosa oksidase merupakan faktor utama yang menentukan aktivitas antibakteri pada madu (Mulu, *et al.*, 2004).

Faktor-faktor lain yang berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri madu diantaranya (Molan, 1992):

1. Tekanan osmotik /aktivitas air (A_w)

Madu merupakan larutan gula sangat jenuh (*supersaturated*), dengan aktivitas air (A_w) yang rendah. Hal itu berarti madu mengandung sedikit air dan kurang mendukung pertumbuhan bakteri dan jamur. Beberapa spesies bakteri dapat tumbuh pada medium dengan A_w antara 0,94-0,99, sedangkan nilai A_w madu sekitar 0,56-0,62.

2. pH madu

Nilai pH madu rata-rata sekitar 3,2 - 4,5, sehingga dapat menghambat pertumbuhan beberapa patogen yang mempunyai pH minimum pertumbuhan sekitar 7,2 - 7,4, seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Streptococcus pyogenes*.

3. Enzim glukosa oksidase

Glukosa oksidase merupakan enzim yang diekskresikan oleh lebah madu untuk menghasilkan madu dari nektar. Enzim ini merubah glukosa menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Oleh karena itu, aktivitas antibakteri madu sangat berhubungan dengan jumlah hidrogen peroksidase dan glukosa oksidase. Pada madu yang dilarutkan dalam air akan menyebabkan kenaikan aktivitas enzim 2,5-50 kali lipat, bersifat antiseptik, dan tidak membahayakan jaringan.

4. Komponen antibakteri pada madu

Madu mengandung beberapa senyawa antibakteri dalam jumlah yang kecil, yaitu pinosebrin, terpen, benzil alkohol, 3,5-dimetoksi-4-asam hidroksi benzoat (asam siringat), metil-3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoat (metil siringat), 3,4,5 asam trimetoksi benzoat, 2-hidroksi-3-asam fenil propionat, 2-asam hidroksi benzoat, dan 1,4-dihidroksibenzen. Senyawa-senyawa tersebut adalah faktor pendukung aktivitas antibakteri non-peroksida .

Aktivitas antibakteri madu dapat berkurang karena beberapa faktor, diantaranya adanya ion logam, asam askorbat, dan katalase dari nektar yang dapat

merusak hidrogen peroksida, serta adanya cahaya dan pemanasan yang dapat merusak enzim glukosa oksidase.

2.5 Zat Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri. Zat-zat ini dapat diperoleh secara alami, melalui semisintesis, dan melalui modifikasi molekul biosintetik, yang bekerja membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri (G.F. Brooks, et al., 2001; Madigan, *et al.*, 2003). Aktivitas antibakteri ditentukan oleh interaksi zat tersebut dengan bakteri. Oleh karena itu, kualitas zat antibakteri dapat ditentukan berdasarkan afinitas obat dengan reseptor yang terdapat dalam sel bakteri (Hadinegoro, 1999).

2.5.1 Penggolongan

Zat antibakteri dapat dibedakan menjadi tiga kelompok, berdasarkan efek yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri (Madigan, *et al.*, 2003) yaitu:

1. Bakteriostatik

Bakteriostatik merupakan efek yang menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak menyebabkan kematian seluruh bakteri. Mekanisme bakteriostatik biasanya terjadi pada ribosom yang menyebabkan penghambatan sintesis protein.

2. Bakterisidal

Zat yang bersifat bakterisidal dapat membunuh bakteri, tetapi tidak menyebabkan lisis atau pecahnya sel bakteri.

2.5.2 Mekanisme Kerja

Zat antibakteri dapat melakukan aktivitasnya melalui beberapa mekanisme (Tjay & Rahardja, 2002) yaitu:

1. Mengganggu sintesis dinding sel

Sintesis dinding sel bakteri dapat diganggu zat antibakteri, sehingga dinding sel yang terbentuk menjadi kurang sempurna dan tidak tahan terhadap tekanan osmotis, sehingga menyebabkan pecahnya sel.

2. Mengganggu sintesis membran sel

Sintesis molekul lipoprotein membran sel bakteri dapat diganggu zat antibakteri, sehingga membran menjadi lebih permeabel yang menyebabkan keluarnya zat-zat penting dari sel.

3. Mengganggu sintesis protein sel

Zat antibakteri dapat berikatan dengan sub unit ribosom bakteri, sehingga menghambat sintesis asam-asam amino dan menghasilkan protein yang inaktif.

4. Mengganggu sintesis asam nukleat

5. Antagonisme saingan

Zat antibakteri dapat bersaing dengan zat-zat yang diperlukan untuk proses metabolisme, sehingga proses tersebut terhenti.

2.6 Pengujian Zat Antibakteri

Zat antibakteri adalah senyawa alami atau sintetik yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri (Madigan, *et al.*, 2003). Aktivitas antibakteri ditentukan oleh interaksi zat tersebut dengan bakteri. Oleh karena itu,

kualitas zat antibakteri dapat ditentukan berdasarkan afinitas obat dengan reseptor yang terdapat dalam sel bakteri (Hadinegoro, 1999). Proses pengujian atau evaluasi zat antibakteri dapat melalui beberapa tahapan yaitu isolasi dan pemurnian, pemeriksaan efisiensi antibakteri, produksi skala kecil, uji toksisitas, produksi skala besar, dan uji klinis (S. Hogg, 2005).

2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari suatu zat uji. Pengujian dapat dilakukan melalui metode difusi agar atau melalui turbidimetri (A. Wanger, 2007). Metode difusi agar dapat dilakukan melalui beberapa teknik (Madigan, *et al.*, 2003) yaitu :

1. Teknik cakram kertas

Medium agar dalam cawan petri diinokulasi dengan bakteri uji. Sejumlah zat uji ditambahkan pada cakram kertas, lalu cakram-cakram tersebut diletakkan pada permukaan agar. Setelah diinkubasi beberapa lama, zat uji berdifusi dari cakram kertas ke dalam agar. Semakin jauh jarak difusi dari kertas saring, semakin kecil pula konsentrasi zat uji tersebut. Jika terdapat aktivitas antibakteri pada zat uji, maka pada media agar tersebut akan terlihat zona inhibisi di sekeliling kertas cakram. Diameter zona inhibisi ini sebanding dengan konsentrasi, kelarutan, koefisien difusi dan efektivitas antibakteri dari zat uji.

2. Teknik silinder

Pada teknik ini, silinder gelas diletakkan pada permukaan agar padat yang telah diinokulasi bakteri uji. Zat uji dimasukkan ke dalam silinder, kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri terlihat sebagai daerah hambat atau zona bening di sekeliling silinder.

3. Teknik perforasi

Pada teknik perforasi, perforator digunakan untuk membuat lubang-lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, lalu zat uji dimasukkan ke dalam lubang-lubang tersebut. Aktivitas antibakteri dapat terlihat sebagai daerah hambat atau zona bening yang terbentuk di sekeliling lubang.

2.6.2 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah suatu zat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Nilai KHM setiap zat yang memiliki aktivitas antibakteri dapat ditentukan melalui teknik pengenceran agar dan pengenceran medium cair. Nilai KHM zat uji ditentukan melalui serangkaian variasi konsentrasi zat uji (J.M. Andrews, 2001).

2.6.3 Penetapan Nilai Banding Aktivitas Antibakteri

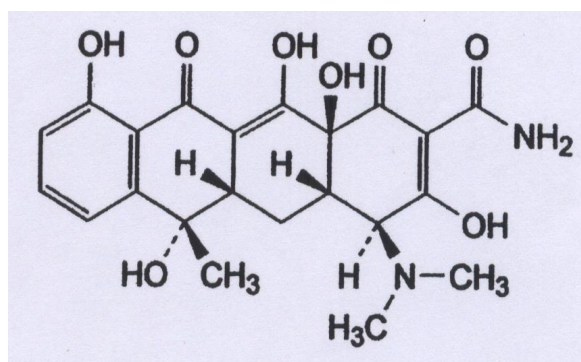
Nilai banding aktivitas antibakteri adalah perbandingan aktivitas antibakteri suatu zat uji terhadap suatu antibiotik pembanding. Nilai banding diperoleh dengan membandingkan respon (berupa daerah hambat pertumbuhan

bakteri uji) dari zat uji terhadap respon antibiotik pembanding, pada kondisi yang sama. Dari hasil pengamatan respon antibiotik pembanding, maka dibuat kurva baku dengan sumbu X berupa log konsentrasi antibiotik pembanding (ppm) terhadap sumbu Y berupa diameter hambatan (mm) yang dihasilkan antibiotik tersebut. Dari kurva baku tersebut, diperoleh persamaan regresi linear (Hugo & Russel, 1997).

Persamaan regresi linier ini digunakan untuk menentukan konsentrasi zat uji. Garis lurus ditarik dari daerah hambatan yang dihasilkan zat uji sampai memotong kurva baku, lalu ditarik garis yang sejajar dengan sumbu X untuk menentukan log konsentrasi zat uji (Hugo & Russel, 1997).

2.6.4 Tetrasiklin

Tetrasiklin merupakan antibiotik berspektrum luas yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus* (S. Hogg, 2005). Gambar 2.6 menunjukkan struktur tetrasiklin.



Gambar 2.6 Struktur kimia tetrasiklin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Tetrasiklin berikatan dengan ribosom subunit 30S dari bakteri untuk memblokir penambahan aminoasil-tRNA dan menghambat pemanjangan rantai polipeptida baru, sehingga menghambat sintesis protein. Pengikatan ini bersifat sementara, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan tetrasiklin bersifat bakteriostatik. Walaupun demikian, tetrasiklin dapat menghambat pertumbuhan sejumlah besar bakteri, klamidia dan mikroplasma (G.F. Brooks, *et al.*,2001).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inkubator, jangka sorong, lemari pendingin, neraca analitik (Mettler Toledo, Dragon 204), ose, otoklaf, oven (Mettler 200 dan Memmert 100-800), pemanas (Toyomi, HP115F1), pembakar spirtus, perforator, mikropipet, pipet volumetri, spatula, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

3.2 Bahan

3.2.1 Madu

Madu yang digunakan adalah madu amber dan madu putih dari pulau Sumbawa, Indonesia, yang diproduksi oleh C.V. Syan Bimpar Utama, Jakarta dan didistribusikan oleh C.V. Health Vision, Jakarta.

3.2.2 Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* resisten metisilin (*MRSA*) dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten (*PaMR*) yang diperoleh dari Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung, Indonesia.

3.2.3 Antibiotika Pembanding

Antibiotika pembanding yang digunakan adalah tetrasiklin HCL.

3.2.4 Media Pertumbuhan Bakteri

Media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (Oxoid, Basingstoke, UK) dan *Nutrient Broth* (Oxoid, Basingstoke, UK).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Analisis Kualitas Madu Amber dan Madu Putih

Parameter kualitas madu yang dianalisis meliputi keasaman, indeks bias, kadar air, viskositas, dan berat jenis.

1. Keasaman

Penentuan keasaman dilakukan dengan cara titrasi madu dengan larutan NaOH. Sebanyak 10 g madu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, kemudian dilarutkan dengan 75 ml air suling. Setelah itu ditambahkan 4-5 tetes indikator fenoftalein, larutan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna yang tetap selama 10 detik. Keasaman madu dihitung dengan rumus:

$$\text{Keasaman (ml N NaOH/kg)} = \frac{a \times b}{c} \times 1000$$

Keterangan:

a = Volume (ml) NaOH yang digunakan dalam titrasi

b = Normalitas NaOH (N).

c = Bobot madu (g)

2. Kadar air dan indeks bias

Kadar air madu diukur menggunakan refraktometer dengan membaca nilai indeks biasnya. Hasil pembacaan indeks bias pada refraktometer dibandingkan dengan tabel hubungan indeks bias dengan kadar air madu, seperti yang tercantum pada Lampiran D. Pembacaan nilai indeks bias madu dilakukan pada suhu 20 °C atau suhu yang telah dikoreksi terhadap suhu 20 °C.

3. Viskositas

Viskositas madu ditentukan dengan menggunakan viskotester *Rion VT-04F*. Sebanyak 100 ml madu dimasukkan ke dalam *Beaker glass* 100 ml, kemudian viskositasnya diukur menggunakan spindel No. 1, dengan faktor koreksi 200. Pengukuran viskositas dianggap selesai, jika jarum penunjuk menunjukkan angka yang tetap.

4. Berat jenis

Berat jenis madu diukur dengan menggunakan piknometer. Piknometer kosong ditimbang, kemudian diisi dengan air. Piknometer berisi air ditimbang kembali, lalu airnya dibuang. Piknometer dikeringkan, madu dimasukkan ke dalamnya, kemudian ditimbang. Berat jenis madu dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Berat jenis madu} = \frac{\text{Berat madu}}{\text{Berat air}}$$

Keterangan:

Berat air = (Berat piknometer + air) – (Berat piknometer kosong)

Berat madu = (Berat piknometer + madu) – (Berat piknometer kosong)

3.3.2 Penyiapan Biakan Bakteri Uji *S. aureus* Resisten Metisilin dan *P. aeruginosa* Multiresisten

Sebanyak 1-2 ose masing-masing bakteri uji (*S. aureus* resisten metisilin dan *P. aeruginosa* multiresisten) diinokulasi ke dalam *Nutrient Broth* secara aseptis, lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.

3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji

Sebanyak 20 µL masing-masing suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu agar nutrien yang masih cair (40 - 45⁰C) dituangkan ke dalamnya. Setelah dihomogenkan dan dibiarkan membeku, beberapa lubang dibuat pada agar nutrien dengan menggunakan perforator.

Sebanyak 50 µL bahan uji (madu) dimasukkan ke dalam lubang-lubang tersebut. Semua cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 18 – 24 jam. Diameter hambat yang terbentuk di sekitar lubang diamati. Terbentuknya diameter hambat di sekitar lubang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari bahan uji.

3.3.4 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji

Sejumlah tertentu madu dimasukkan ke cawan petri, lalu dilakukan pengenceran bertingkat dengan penambahan sejumlah tertentu nutrien agar untuk mencapai variasi konsentrasi tertentu. Setelah dihomogenkan dan dibiarkan membeku, satu ose bakteri uji digoreskan di atas permukaan agar nutrien. Semua cawan petri diinkubasi pada posisi terbalik dalam inkubator pada suhu 37⁰C

selama 18 – 24 jam. KHM berada di cawan petri dengan konsentrasi bahan uji terkecil tanpa pertumbuhan koloni, hasilnya dapat dilihat pada lampiran B.

3.3.5 Uji Banding Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Tetrasiklin

Sebanyak 40 μ L suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu nutrien agar yang masih cair (40 - 45⁰C) dituangkan ke dalamnya. Setelah dihomogenkan dan dibiarkan membeku, beberapa lubang dibuat pada agar nutrien dengan perforator.

Sebanyak 50 μ L bahan uji (madu) dan antibiotika pembanding (tetrasiklin) dalam berbagai variasi konsentrasi dimasukkan ke dalam masing-masing lubang. Semua cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 18 – 24 jam. Diameter hambat yang terbentuk di sekitar lubang diukur dengan jangka sorong.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Analisis Kualitas Madu Amber dan Madu Putih

Parameter yang dianalisis pada madu meliputi keasaman, indeks bias, kadar air, viskositas, dan berat jenis. Analisis dilakukan untuk melihat kualitas madu yang digunakan, dengan mengacu pada SNI-01-3545-2004 tentang madu. Hasil analisis kualitas madu ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Analisis Kualitas Madu Amber dan Madu Putih

Kriteria	SNI	Jenis madu	
		Madu putih	Madu amber
Keasaman (ml NaOH 1 N/kg)	50	40,337	38,071
Indeks bias	1,5044-1,4745	1,4803	1,4781
Kadar air (%) (maks)	22	22,6	23,4
Viskositas (poise) (min)	10,7	18	16
Berat jenis (g/ml)	1,354-1,4164	1,4136	1,398
Ph	3,2-4,5	4,08	4,17

Dari Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa hanya kriteria kadar air saja yang tidak dapat dipenuhi oleh madu amber dan madu putih. Perbedaan kadar air hasil analisis kedua madu dengan standar SNI cukup kecil. Oleh karena itu, madu amber dan madu putih yang digunakan dalam penelitian ini masih dapat dikatakan mempunyai kualitas yang baik.

4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji

Hasil uji aktivitas madu amber dan madu putih terhadap bakteri *MRSA* dan *PaMR* dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu putih terhadap *MRSA* dan *PaMR*

Madu	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)	
		<i>MRSA</i>	<i>PaMR</i>
Madu putih	50%	36,5	16,3
Madu amber	50%	31,5	15,6

Berdasarkan tabel 4.2 diketahui bahwa kedua madu menghasilkan zona inhibisi terhadap masing-masing bakteri uji. Diameter hambat dari zona inhibisi kedua madu terhadap *MRSA* tidak sepenuhnya bening, tetapi berwarna kekuning-kuningan, yang disebabkan aktivitas bakteriostatik kedua madu terhadap *MRSA*. Pada zona inhibisi kedua madu terhadap *PaMR* masih terdapat beberapa koloni dengan jumlah dan ukuran yang lebih kecil daripada koloni di luar zona inhibisi. Hal ini menunjukkan bahwa kedua madu juga bersifat bakteriostatik terhadap *PaMR*. Gambar dapat dilihat pada lampiran A.

4.2 Hasil Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Madu amber dan Madu Putih terhadap Bakteri Uji

Hasil penetapan KHM madu amber dan madu putih terhadap *MRSA* dan *PaMR* dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Penetapan KHM Madu Amber dan Madu Putih terhadap *MRSA* dan *PaMR*

Konsentrasi (% v/v)	Madu Amber terhadap		Madu Putih terhadap	
	<i>MRSA</i>	<i>PaMR</i>	<i>MRSA</i>	<i>PaMR</i>
0	+	+	+	+
2	+	+	+	+
4	+	+	+	+
6	+	+	+	+
6,5	+	+	+	+
7	+	+	-	+
7,25	+	+	-	+
7,5	+	+	-	+
7,75	+	+	-	+
8	+	+	-	+
10	-	+	-	+
10,5	-	+	-	+
11	-	+	-	+
11,5	-	+	-	+
12	-	+	-	+
12,3	-	+	-	-
12,5	-	-	-	-
13	-	-	-	-

Keterangan: + : ada pertumbuhan koloni bakteri
- : tidak ada pertumbuhan koloni bakteri

Berdasarkan tabel 4.3 KHM madu amber terhadap *MRSA* adalah 10% dan terhadap *PaMR* adalah 12,5%. KHM madu putih terhadap *MRSA* adalah 7% dan terhadap *PaMR* adalah 12,3%. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri madu putih terhadap *MRSA* dan *PaMR* lebih kuat dibandingkan madu

amber terhadap kedua bakteri tersebut. Berdasarkan hasil penelitian tersebut juga menunjukkan *MRSA* lebih sensitif terhadap kedua madu dibandingkan *PaMR*.

4.3 Hasil Uji Banding Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Tetrasiklin

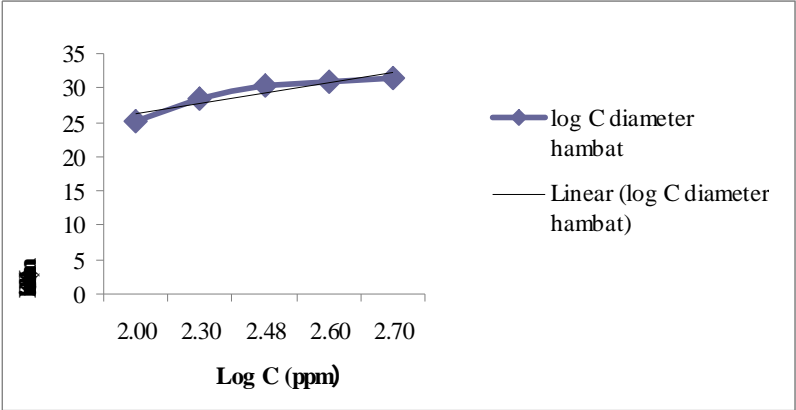
Data perbandingan aktivitas antibakteri tetrasiklin, madu amber dan madu putih terhadap *MRSA* dan *PaMR* dapat dilihat pada tabel 4.4 dan 4.5.

Tabel 4.4 Data Perbandingan Aktivitas Antibakteri Tetrasiklin, Madu Amber dan Madu Putih terhadap *MRSA*

Jenis zat antibakteri	Konsentrasi C (ppm)	Log C	Diameter hambat (mm) terhadap <i>MRSA</i>
Tetrasiklin	100	2	25,26
	200	2,302029996	28,5
	300	2,477121255	30,3
	400	2,602059991	31,03
	500	2,698970004	31,5
Madu Amber	100000	5	16,7
	200000	5,301029996	17,5
	300000	5,477121255	18,3
	400000	5,602059991	20,1
	500000	5,698970004	20,9
Madu Putih	100000	5	18,3
	200000	5,301029996	21,21
	300000	5,477121255	23,2
	400000	5,602059991	26,4
	500000	5,698970004	32,1

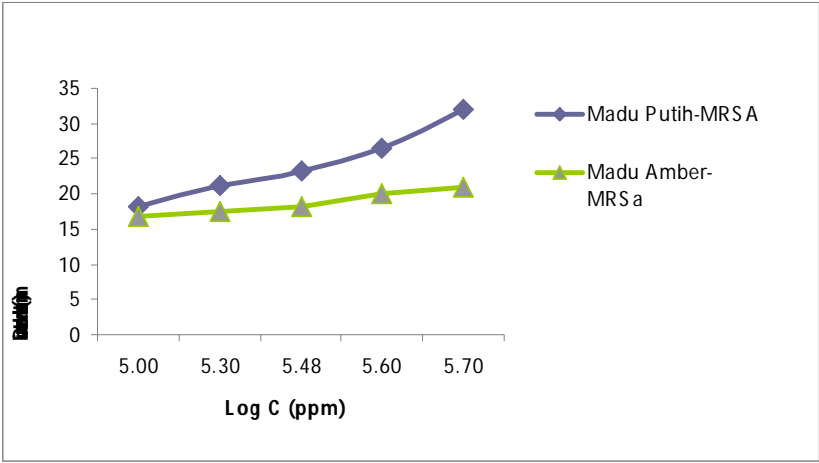
Berdasarkan tabel 4.4 Untuk mendapatkan nilai banding, maka dibuat kurva baku antara log konsentrasi tetrasiklin terhadap *MRSA* dan diperoleh persamaan garis lurus aktivitas antibakteri tetrasiklin terhadap *MRSA* yaitu

$y = 9,1219x + 7,2792$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9822. Dari tabel 4.4 diperoleh kurva baku seperti pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kurva baku tetrasiklin terhadap *MRSA* dengan persamaan $y = 9,1219x + 7,2792$, dengan $R^2 = 0,9822$

Hasil uji banding aktivitas antibakteri madu putih dan madu amber terhadap *MRSA* ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Kurva uji aktivitas madu putih dan madu amber terhadap *MRSA*

Dari Gambar 4.2 diketahui bahwa madu putih mempunyai aktivitas antibakteri lebih baik terhadap bakteri uji *MRSA* dibandingkan madu amber, karena grafik aktivitas antibakteri madu putih yang berada di atas grafik madu amber.

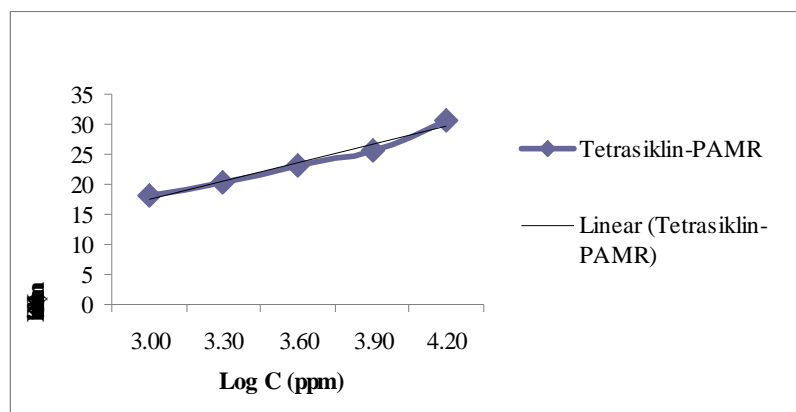
Untuk mendapatkan nilai uji banding, maka diambil satu data konsentrasi dan diameter hambat dari madu amber dan madu putih terhadap *MRSA*. Madu amber dengan konsentrasi 100.000 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 16,7 mm, sedangkan untuk madu putih dengan konsentrasi 100.000 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 18,3 mm. Nilai 16,7 dan 18,3 disubstitusikan ke dalam persamaan $y = 9,1219x + 7,2792$ sebagai nilai y , sehingga dihasilkan nilai x dan antilognya berturut-turut adalah 10,78368756 dan 16,1498819. Dengan menggunakan rumus uji banding, diperoleh nilai banding aktivitas antibakteri madu amber terhadap tetrasiklin untuk *MRSA* sebesar $1 : 1,08 \times 10^{-4}$, sedangkan madu putih terhadap tetrasiklin untuk *MRSA* sebesar $1 : 1,62 \times 10^{-4}$.

Untuk data perbandingan aktivitas antibakteri tetrasiklin, madu amber dan madu putih terhadap *PaMR* dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Data Perbandingan Aktivitas Antibakteri Tetrasiklin, Madu Amber dan Madu Putih terhadap *PaMR*

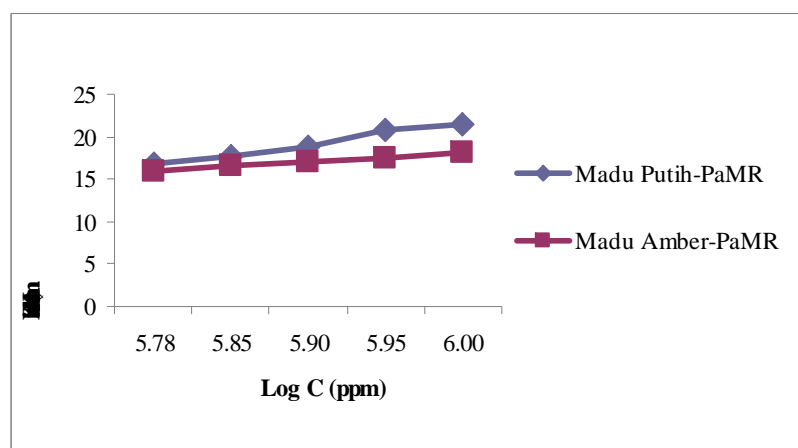
Jenis zat antibakteri	Konsentrasi C (ppm)	Log C	Diameter hambat (mm) terhadap <i>PaMR</i>
Tetrasiklin	1000	3	18,02
	2000	3.301029996	20,31
	4000	3.602059991	23,22
	8000	3.903089987	25,47
	16000	4.204119983	30,68
Madu Amber	600000	5.77815125	16
	700000	5.84509804	16,5
	800000	5.903089987	17,1
	900000	5.954242509	17,5
	1000000	6	18,1
Madu Putih	600000	5.77815125	16,8
	700000	5.84509804	17,75
	800000	5.903089987	18,9
	900000	5.954242509	20,81
	1000000	6	21,5

Berdasarkan tabel 4.5 Untuk mendapatkan nilai banding, maka dibuat kurva baku antara log konsentrasi tetrasiklin terhadap *PaMR* dan diperoleh persamaan garis lurus aktivitas antibakteri tetrasiklin terhadap *PaMR* yaitu $y = 3,048x + 14,396$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9707. Dari data berdasarkan tabel 4.5 diolah melalui analisis regresi linier, menghasilkan grafik kurva baku seperti pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva baku tetrasiklin terhadap *PaMR* dengan persamaan $y = 3,048x + 14,396$, dengan $R^2 = 0,9707$

Hasil uji banding aktivitas antibakteri madu putih dan madu amber terhadap *PaMR* ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Kurva uji aktivitas madu putih dan madu amber terhadap *PaMR*

Dari Gambar 4.4 diketahui bahwa madu putih mempunyai aktivitas antibakteri lebih baik terhadap bakteri uji *PaMR* dibandingkan madu amber,

karena grafik aktivitas antibakteri madu putih yang berada di atas grafik madu amber, sehingga diketahui bahwa madu putih mempunyai aktivitas antibakteri lebih baik terhadap kedua bakteri uji dibandingkan madu amber, karena kedua grafik aktivitas antibakteri madu putih yang berada di atas grafik madu amber.

Perhitungan yang sama dilakukan terhadap aktivitas antibakteri dari madu amber terhadap *PaMR*. Madu amber dengan konsentrasi 600.000 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 16 mm, sedangkan untuk madu putih dengan konsentrasi 600.000 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 16,8 mm. Nilai 16 dan 16,8 disubstitusikan ke dalam persamaan $y = 3,048x + 14,396$ sebagai nilai y , sehingga dihasilkan nilai x dan antilognya berturut-turut adalah 3,374544994 dan 6,175646302. Dengan menggunakan rumus uji banding, diperoleh nilai banding aktivitas antibakteri madu amber terhadap tetrasiklin untuk *PaMR* sebesar $1 : 5,62 \times 10^{-6}$ sedangkan madu putih terhadap tetrasiklin untuk *PaMR* sebesar $1 : 1,03 \times 10^{-5}$.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Madu amber dan madu putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* resisten metisilin (*MRSA*) dan *P. aeruginosa* multiresisten (*PaMR*). Konsentrasi hambat minimum (KHM) madu amber dan madu putih terhadap *S. aureus* resisten metisilin ialah 10% dan 7%. KHM madu amber dan madu putih terhadap *P. aeruginosa* multiresisten ialah 12,5% dan 12,3%. Nilai banding aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap tetrasiklin untuk *MRSA* sebesar 1 : 1,08 x 10⁻⁴ dan 1 : 1,62 x 10⁻⁴. Nilai banding aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap tetrasiklin untuk *PaMR* sebesar 1 : 5,62 x 10⁻⁶ dan 1 : 1,03 x 10⁻⁵.

5.2 Saran

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri madu terhadap berbagai galur bakteri lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar., *et al.* 2003. *Clindamycin treatment of invasive infections caused by community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus in children. Pediatr Infect Dis J*, 2003;22:593–8.
- Andrews, J.M. 2001. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *JAC*, 48(SI):5 – 16.
- Baird-Parker, T.C. 2000. *Staphylococcus aureus*. p1317-1335. In *The Microbiological Safety and Quality of Food. Volume II*. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. and Gould, G.W. eds. Published by Aspen Publishers.
- Benech, A. 2004. *Honey: Functional Sweetness for Wellness Food*. Wellness Food Europe. Available at: <http://www.harnisch.com/wfe/ausg/pdf/honey.pdf>. [Diakses tanggal 22 November 2007].
- Brien, F. G., T. T. Lim, F. N. Chong, G. W. Coombs, M. C. Enright, D. A. Robinson and A. Monk. 2004. *Diversity among community isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Australia. J Clin Microbiol*. p. 3185–3190.
- Brooks, G.F., J.S. Butel dan S.A. Morse. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Buku 1. Penerjemah dan editor: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Edisi Pertama. Jakarta: Salemba Medika. hal. 301 – 8, 317 – 26.
- Caron, D.W. 2004. Honey. *J MAAREC Publication*. 3 .8. Available at: <http://maarec.cas.psu.edu/pdfs/HONEY.PDF> [Diakses tanggal 22 November 2008].
- Chin, J., 2000, *Manual Pemberantasan Penyakit Menular*, Edisi 17, Penerjemah : I Nyoman Kandun, Hal 481.
- Connors, A.K., *et al.*1992. *Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi*, terjemahan Didik Gunawan, Jilid 1, Edisi 2, IKIP Semarang Press, Semarang, Hal, 136-137.
- Departemen Kesehatan Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1997. *Kompedia Obat Bebas*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 778.

- Dwiprahasto I. 2005. *Kebijakan Untuk Meminimalkan Risiko Terjadinya Resistensi Bakteri di Unit Perawatan Intensif Rumah Sakit*. JMPK; 08(4) : 177-178.
- Foca, M, *et al.* 2000. *Endemic Pseudomonas aeruginosa in a Neonatal Intensive Care Unit*. *N Engl J Med*. Vol 343 no 10. 7 September.
- Foster, T. 2007. *Staphylococcus*. Available at: <http://www.gbs.utmb.edu/microbook/ch012.htm> [Diakses tanggal 26 November 2007].
- Garrity, G.M., Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzéby, and B.J. Tindall. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7*. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364, 464.
- Hadinegoro, S. R. 1999. *Masalah Multi Drug Resistance pada Demam Tifoid Anak*. *Cermin Dunia kedokteran*. 124. Hal. 5-8.
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. p.202.
- Holt, G., P. Sneath, J.T Stanby, and S.T William. 1994. *Bergeys Manual Determinative Bacteriology*. USA: Baltimore William and Wilkins.
- Hugo, W. B., and A. Russel. 1997. *Pharmaceutical Microbiology*. Blackwell Scientific Publications. London. P. 116-120.
- Ismail, A. 2007. *Amankah Madu untuk Diabetes* Available at: <http://alamiah.multiply.com/journal/item/20>. [Diakses tanggal 01 Juni 2008].
- Jawetz, E., J.L. Melnick, and E.A. Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20, Penerjemah: Edi Nugroho dan R. F. Maulany, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Hal 211-215.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, and E.A. Adelberg. 2001. *Medical Microbiology*. edisi ke-22. McGraw Hill Company: USA. Hal 229-231.
- Juuti., K. 2004. *Surface protein Psa of methicillin-resistant Staphylococcus aureus role in adhesion, invasion and pathogenesis, and evolutionary aspects*. J. Academic Dissertation in General Microbiology.
- Kamaruddin. 1997. *Sedikit Tentang Madu*. Available at: <http://dyka.blogspot.com/2005/04/13/q-a-sedikit-tentang-madu/>. [Diakses tanggal 20 Maret 2008].
- Karchmer, A.W. 2006. *From theory to practice: resistance in Staphylococcus aureus and new treatments*. *Clin. Microbiol. Infect.* 12 (Suppl. 8): 15-21.

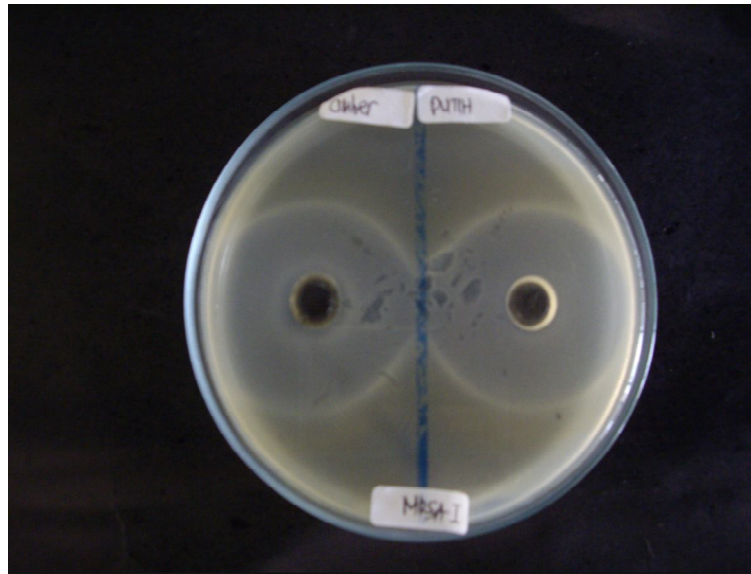
- Katzung, Bertram G. 2001. *Basic and Clinical Pharmacology Second Edition*. USA: Lange Medical Publications.
- Ketchum, P.A. 1998. *Microbiology concept and applications*. USA: John Wiley and Son, Inc.
- Klein E, DL.Smith, Laxminarayan. 2007. "*Hospitalizations and Deaths Caused by Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus, United States, 1999–2005*". *Emerg Infect Dis* 13 (12): 1840–6.
- Kuntaman. 2007. *Penyakit Infeksi di Indonesia*. Di edit oleh : Nasronudin dkk, Airlangga University Press , Surabaya, Hal . 177-178.
- Macedo, J.L.S., and J.B. Santos. 2005. *Bacterial and Fungal Colonization of Burn Wounds*. Vol. 100(5), Mem Institute Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Page 535-539.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, and J. Parker. 2003. *Biology of Microorganisms, 10th edition*. Pearson Education. United States of America. P. 704-705, 741-742.
- Marzoeki, D. 1991. *Pengelolaan Luka Bakar*, Airlangga University Press. Surabaya.
- Mayasari, E. 2005. *Pseudomonas aeruginosa : Karakteristik, Infeksi, dan Penanganan*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan, Hal 9.
- Miraglio, A. M. 2002. *Honey Health and Therapeutic Qualities*. National Honey Board. <http://www.biologiq.nl/UserFiles/Compendium%20Honey%202002.pdf> honey health. [Diakses tanggal 22 November 2007].
- Moenadjat, Y. 2003. *Luka Bakar*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; Jakarta.
- Molan, P. C. 1992. The Antibacterial Activity of Honey: The Nature of The Antibacterial Activity. *Bee World*. 73 (1). P. 5-28.
- Muhaimin., et al. 2003. *Optimasi Proses Overproduksi, Pemurnian dan Karakterisasi Protein Mga Sebagai Molekul Target Untuk Pencegahan Infeksi Oleh Streptococcus Pyogenes*. *Jurnal Matematika dan Sains*. Vol. 8, No 3. Hal. 117-123.
- Mullai, V.,and T. Menon . 2005 *Antibacterial Activity of Honey Against Pseudomonas aeruginosa*. Department of Microbiology. *Indian J Pharmacol*. Vol. 37. P. 403.

- Mulu, A., B. Tessema and F. Debie. 2004. *In vitro Assesment of the antimicrobial potential of honey on common human patogens*. Ethiop J Health Dev. 18(2):107-11.
- National Honey Board. 2001. Honey: a reference guide to a nature's sweetener. Available at: <http://www.honeylocator/ref.guide> [Diakses tanggal 29 November 2007].
- Ryan KJ, S Falcow. 1994. *Medical Microbiology*. Edisi ke-3. Amerika: Appleton and Lange. hal 353-354.
- Salmenlina., S. 2002. *Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Finland*. Helsinki. The National Public Health Institute
- Salyers., AA and Dixie., DW. 1994. *Bacterial Pathogenesis A Molecular Approach*. ASM Press. Washington, D.C.
- Sukartiko, 1986. Prosessing Madu Lebah. Prosiding Lokakarya Pembudidayaan Lebah Madu untuk Peningkatan Kesejahteraan Masyarakat. Perum Perhutani, Jakarta. Halaman 129-133.
- Suranto, A. 2004. *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. Editor: T. Yulia. Cetakan Pertama. Jakarta: AgroMedia Pustaka. hal. 1 – 4, 9 – 14, 19 - 35.
- Susilo, 2004. Komposisi Madu. Available at: <http://habbat.com/madu> [Diakses Tanggal 13 Oktober 2008].
- Tjay, T. H., dan K. Rahardja. 2002. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya, edisi ke-5*. Elex Media Komputindo. Jakarta. Hal. 59.
- Todar, K. 2004. *Textbook of Bacteriology: Pseudomonas Aeruginosa*. University of Winconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Volk, A Wesley & Margaret FW. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi ke-5. Penerbit Erlangga : Jakarta. Hal 235.
- Wanger, A. 2007. Disk diffusion test and gradient methodologes. In: Antimicrobial Suspectibility Testing Protocols. Editors: R. Schwalbe, L. Steele-Moore, and A.C. Goodwin. Boca Raton: CRC Press. p. 53 – 73.
- Warsa, U.C. 1994. *Kokus positif Gram*. Dalam: *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara. Hal. 253-63.

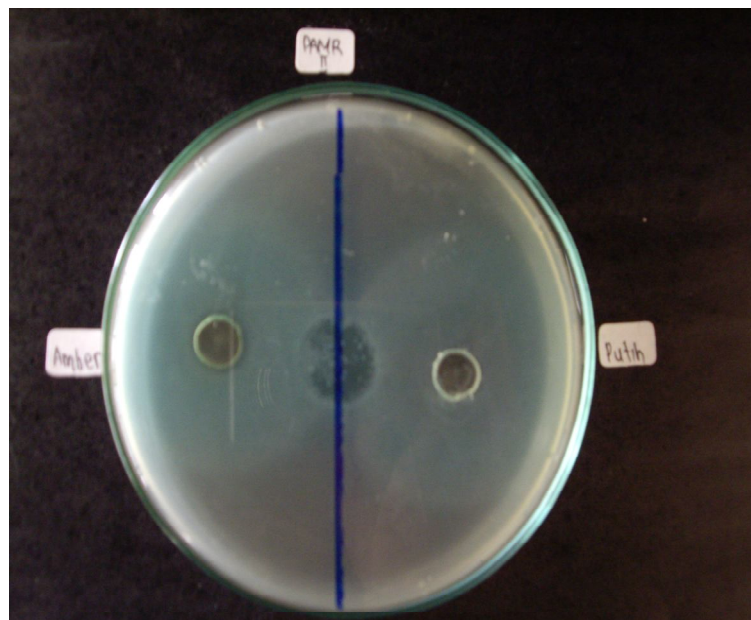
- White JW, Riethof ML, Kushnir I. 1960. Composition of Honey. VI. The effect of storage on carbohydrates, acidity and diastase content. *J Food Sci*, 26(1): 63-71.
- White JW. 1975. Composition of honey. in Crane E (ed). *Honey. A Comprehensive Survey*. Heinemann: London.
- Wilix, D. J., P. C. Molan, and C. J. Harfoot. 1992. A Comparison of The Sensitivity of Wound Infecting Species of Bacteria to The Antibacterial Activity of Manuka and Other Honey. *J. Applied Bacteriology*. 73. P. 388-394.
- Wise, D.L. 1984. *Burn Wound Coverings*, Vol 1, CRC Press, Florida. Page. 55-84.
- Zewdi, A. 2007. *Wukro White Honey*; Available at: <http://www.slowfoodfoundation.com/eng/presidi/dettaglio.lasso?Cod=343> . [Diakses Tanggal 20 April 2008].

LAMPIRAN A

AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU AMBER, DAN MADU PUTIH
TERHADAP *MRSA* DAN *PAMR*



a



b

LAMPIRAN A**(lanjutan)**

Gambar 4.5 Aktivitas antibakteri madu amber dan madu putih terhadap

(a) *Staphylococcus aureus* resisten metisilin

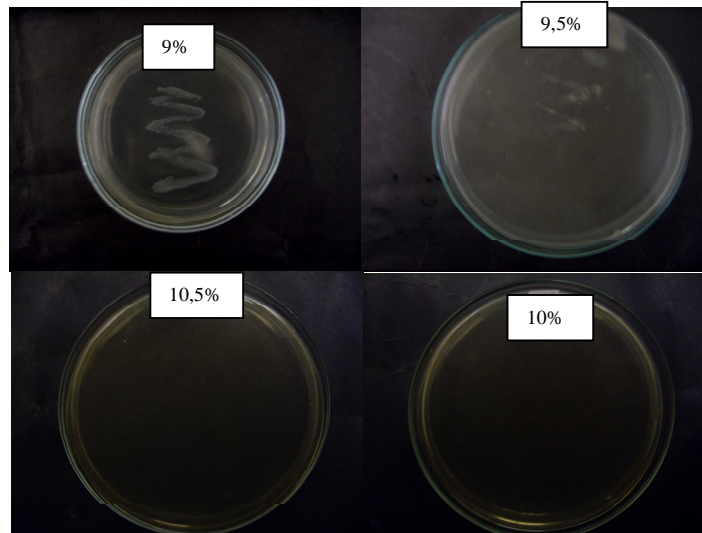
(b) *Pseudomonas aeruginosa* multi resisten

Keterangan: Amber : madu amber

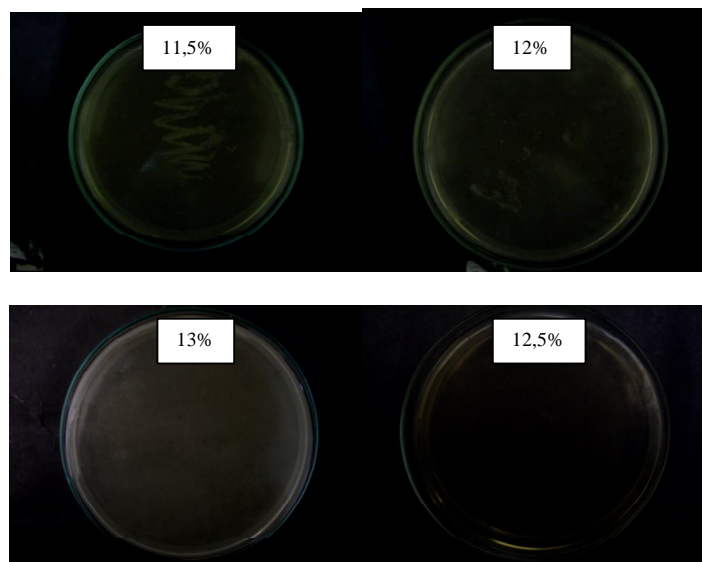
Putih : madu putih

MRSA: *Staphylococcus aureus* resisten metisilin

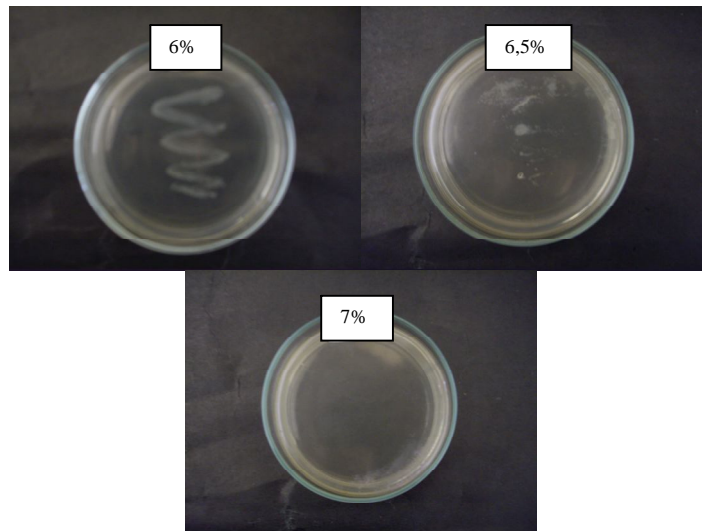
PAMR: *Pseudomonas aeruginosa* multi resisten

LAMPIRAN B**HASIL PENETAPAN KHM MADU AMBER DAN MADU PUTIH
TERHADAP *MRSA* DAN *PAMR***

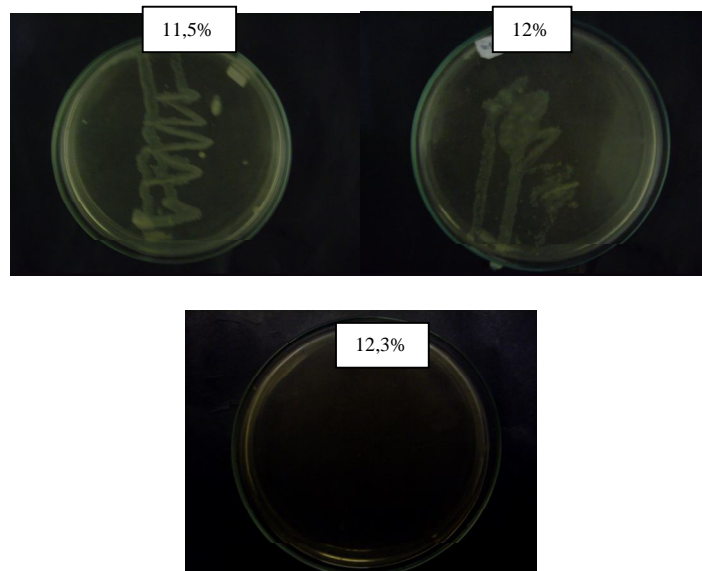
Gambar 4.6 Penentuan KHM madu amber terhadap *MRSA*



Gambar 4.7 Penentuan KHM madu amber terhadap *PAMR*

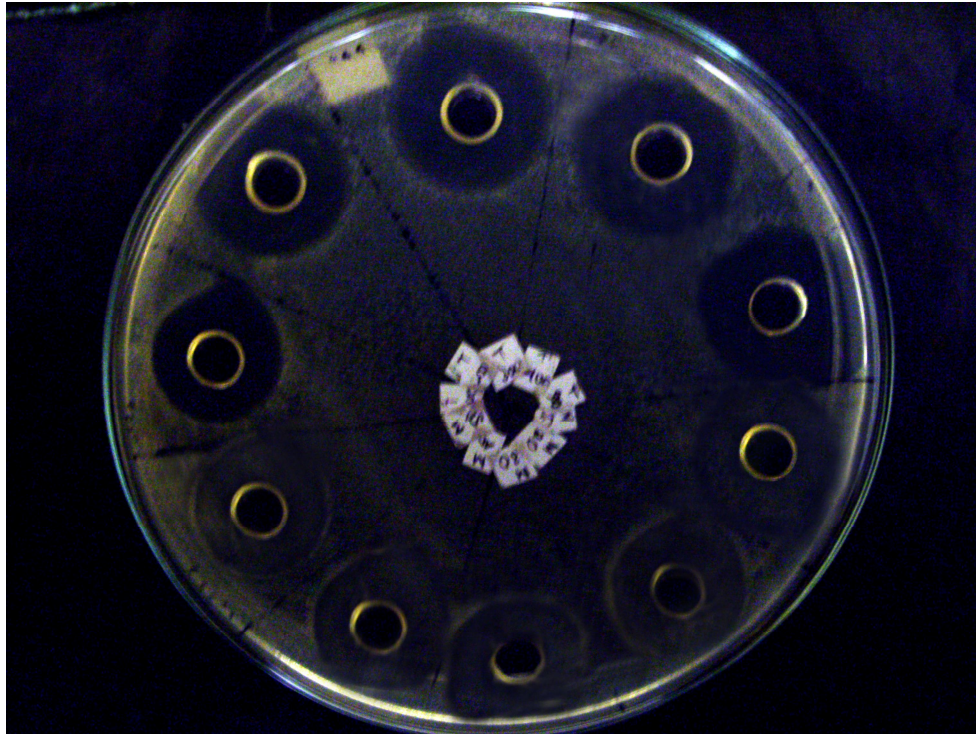
LAMPIRAN B**(lanjutan)**

Gambar 4.8 Penentuan KHM madu putih terhadap *MRSA*



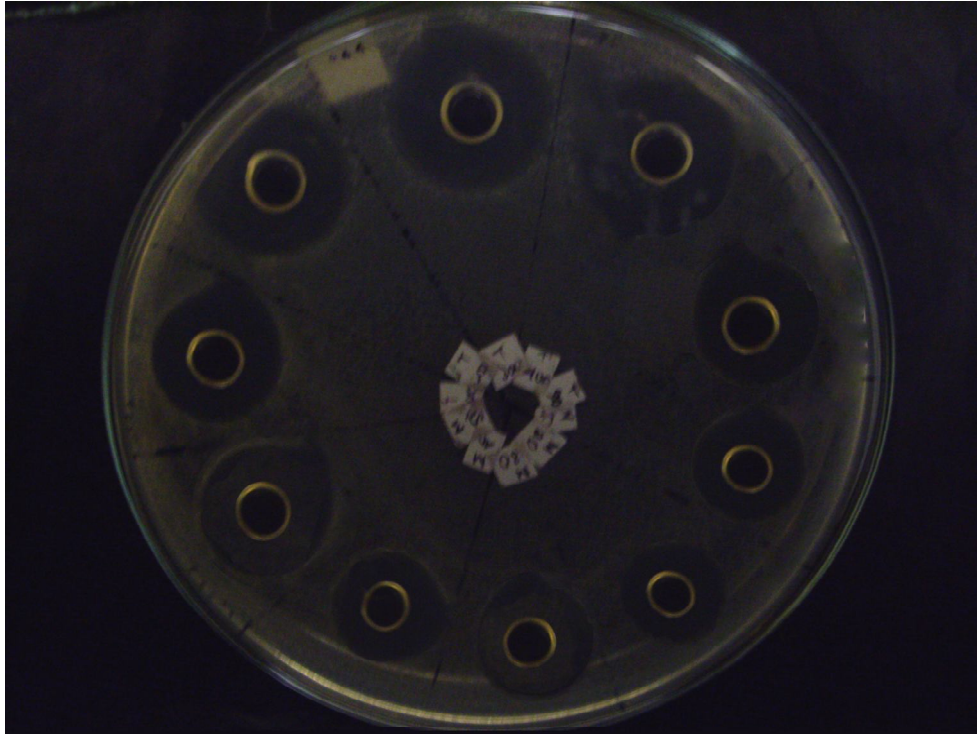
Gambar 4.9 Penentuan KHM madu putih terhadap *PAMR*

LAMPIRAN C

UJI BANDING AKTIVITAS ANTIBAKTERI TETRASIKLIN dan MADU
PUTIH TERHADAP *MRSA*

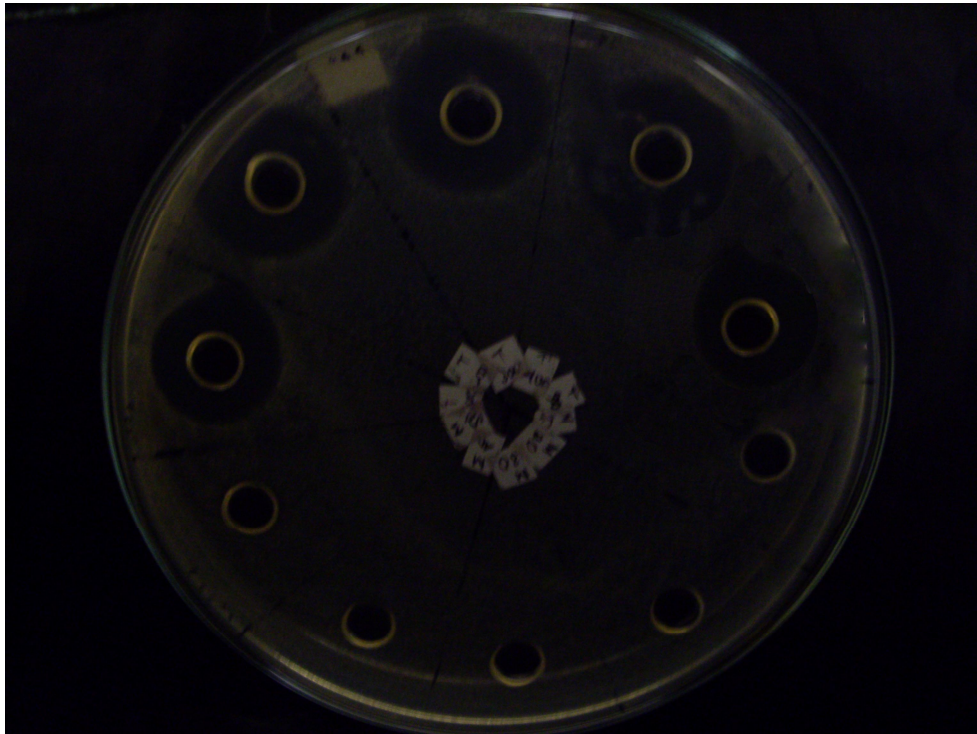
Gambar 4.10 Uji banding aktivitas antibakteri tetrasiklin dan madu putih terhadap bakteri *MRSA*

Keterangan: T : Tetrasiklin
M : Madu putih

LAMPIRAN C**(lanjutan)****UJI BANDING AKTIVITAS ANTIBAKTERI TETRASIKLIN dan MADU
PUTIH TERHADAP *PaMR***

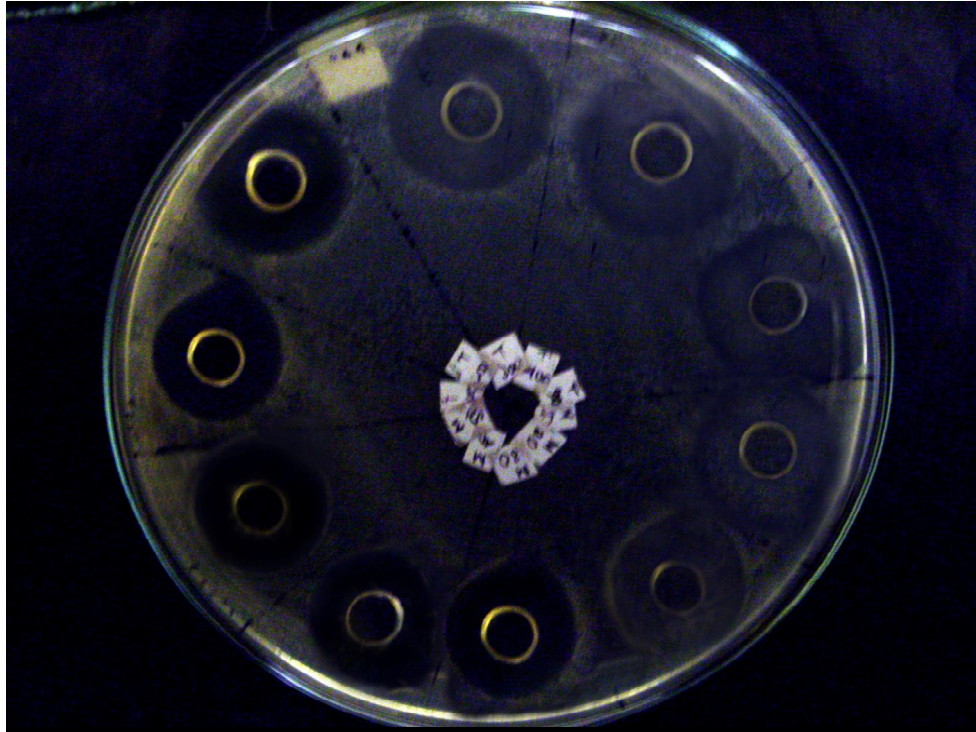
Gambar 4.11 Uji banding aktivitas antibakteri tetrasiklin dan madu putih terhadap bakteri *PaMR*

Keterangan: M: madu putih
T : tetrasiklin

LAMPIRAN C**(lanjutan)****UJI BANDING AKTIVITAS ANTIBAKTERI TETRASIKLIN dan MADU
AMBER TERHADAP *MRSA***

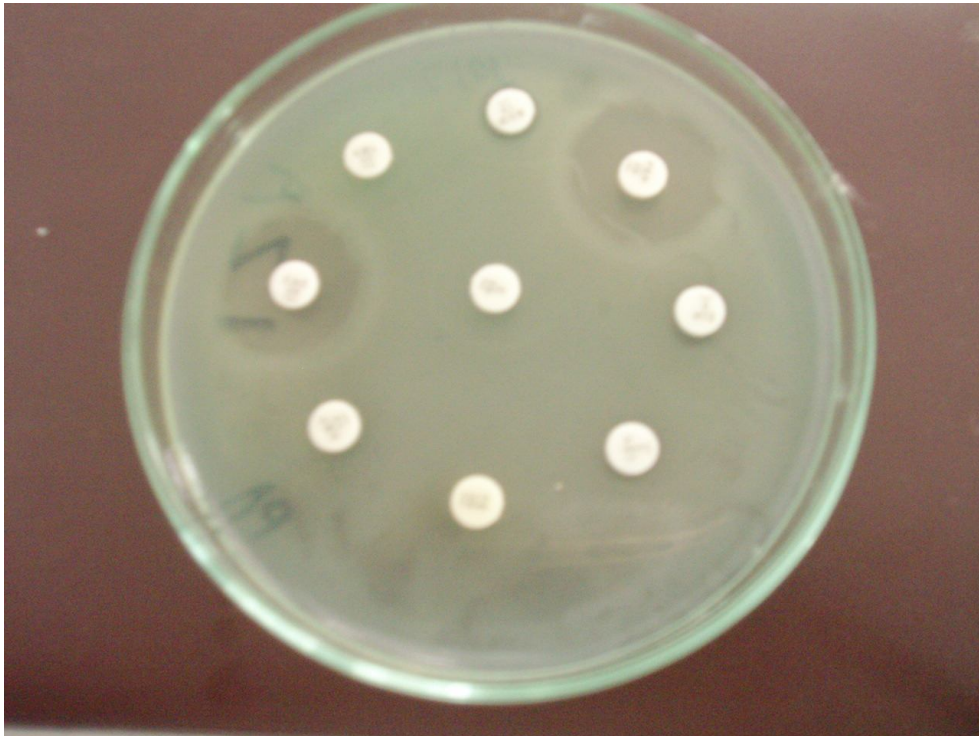
Gambar 4.12 Uji banding aktivitas antibakteri tetrasiklin dan madu amber terhadap bakteri *MRSA*

Keterangan: M: madu putih
T : tetrasiklin

LAMPIRAN C**(lanjutan)****UJI BANDING AKTIVITAS ANTIBAKTERI TETRASIKLIN dan MADU
AMBER TERHADAP *PaMR***

Gambar 4.13 Uji banding aktivitas antibakteri tetrasiklin dan madu amber terhadap bakteri *PaMR*

Keterangan: M: madu putih
T : tetrasiklin

LAMPIRAN D**UJI RESISTENSI *Pseudomonas aeruginosa***

LAMPIRAN E**UJI RESISTENSI *Staphylococcus aureus***