

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Madu

Madu adalah cairan alami umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu (*Apis sp.*) dari saribunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain tanaman (ekstra floral) (SNI 2013). Menurut (Gairola dkk, 2013), madu merupakan bahan makanan yang kompleks yang diproduksi oleh alam dan dapat digunakan manusia sebagai agen pemanis tanpa adanya proses pengolahan. Madu terdiri atas berbagai senyawa antara lain yaitu air, mineral, karbohidrat dalam bentuk gula, asam organik, vitamin, enzim dan senyawa bioaktif (Hudri 2014).

Apis dorsata merupakan spesies yang hanya berkembang di Asia seperti; India, Philipina, China dan Indonesia. Madu spesies ini dikenal sebagai madu alam atau madu hutan. Di Indonesia spesies lebah madu tersebut hanya terdapat di Pulau Sumatera, Maluku, Irian Jaya, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur (Aden, 2010).

Pengolahan madu oleh lebah dibantu oleh peran enzim. Enzim yang utama dalam madu antara lain yaitu invertase, diastase dan karbohidrat oksidase (Nadhilla, 2014). Madu memiliki pH yang rendah dengan rentang 3,4-6,1 yang menyebabkan madu bersifat asam. Madu termasuk larutan lewat jenuh karena memiliki kadar karbohidrat yaitu berupa gula pereduksi yang tinggi. Menurut

SNI (2013), kadar gula pereduksi pada madu yaitu minimal 65%. Madu memiliki kadar air yang rendah, namun madu juga memiliki sifat higroskopis yaitu dapat menyerap air dan kelembapan udara di sekitarnya (Suranto, 2007).

Madu memiliki warna, aroma serta rasa yang berbeda-beda, tergantung pada jenis tanaman yang banyak tumbuh di sekitar peternakan lebah madu. Senyawa bioaktif dalam madu beragam seperti senyawa antibakteri, antioksidan, antifungi, antiviral membuat madu banyak digunakan sebagai obat. Madu dihasilkan oleh lebah madu dengan memanfaatkan nektar bunga tanaman. Nektar tanaman tersebut dapat diperoleh dari flora yang sejenis (monoflora) maupun flora yang berbeda (multiflora). Madu multiflora umumnya dinamakan sesuai dengan lokasi dikumpulkannya madu seperti madu Sumbawa, madu Riau, madu Lubuk Minturun atau madu Bangka.

Madu telah diteliti oleh sejumlah ahli dan diketahui dapat untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri maupun jamur. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas antimikroba madu diantaranya :

a. Aktifitas air yang sedikit

Madu merupakan cairan yang mengandung glukosa dengan saturasi yang tinggi yang mempunyai interaksi yang kuat terhadap molekul air. Proses osmosis yang menyerap air dari bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena kekurangan air dan mengeringkan bakteri hingga bakteri sulit tumbuh dan akhirnya mati. Kandungan air madu sekitar 17% dengan aktifitas air (AW) antara 0,56-0,65. Hal ini tidak mendukung

pertumbuhan kebanyakan bakteri yang membutuhkan AW sebesar (0,94-0,99) (Fady, 2015).

b. Kandungan hidrogen peroksida

Aktifitas antimikroba yang lain pada madu adalah hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dihasilkan secara enzimatik. Madu efektif dalam menyediakan hidrogen peroksida secara perlahan, merata dan terus-menerus oleh enzim glukosa oksidase. Hidrogen peroksida pada madu merupakan antiseptik karena sifatnya sebagai antibakterial. Hidrogen peroksida dapat menghambat sekitar 60 jenis bakteri aerob maupun anaerob serta bakteri gram positif dan gram negatif. Pertumbuhan bakteri dapat dihambat oleh 0,02-0,05 mmol/l hidrogen peroksida. Glukosa + H_2O + O_2 ----- enzim glukosidase --- asam glukonat + H_2O_2 (Hidrogen Peroksida) (Suranto, 2007).

c. Keasaman

Madu memiliki sifat yang cukup asam dengan pH berkisar 3,2 – 4,5. Keasaman yang rendah merupakan penghambat yang efektif terhadap pertumbuhan bakteri, baik di kulit maupun di saluran lain dalam tubuh, dimana kebanyakan bakteri patogen bisa hidup pada pH antara 4,0 – 4,5 (Wirakusumah, 2010).

d. Faktor Fitokimia

Beberapa senyawa fitokimia diduga berperan pada aktivitas antibakteri madu, antara lain *pinocembrin*, *benzylalcohol*, *terpenes*, *3,4-dimethoxy-4-*

hydroxibenzoic acid, 2-hydroxy-3-phenylpropionic acid, 2-hydroxybenzoic acid dan *1,4-dihidroxybenzene* (Fady, 2015).

e. Faktor non-peroksida

Faktor non-peroksida juga berperan dalam aktivitas antimikroba madu. Mengandung senyawa organik dari kelompok flavonoid, glikosida, dan polifenol yang dapat membunuh bakteri patogen (Wirakusumah, 2010).

Menurut Kuntadi (2008), rata-rata produksi madu seluruh Indonesia diperkirakan mencapai sekitar 4000 ton setiap tahunnya. Produksi yang dihasilkan tersebut sekitar 75% dari perburuan madu liar di hutan. Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki banyak sumber daya alam berupa perkebunan dan hutan yang berpotensi sebagai sumber penghasil madu. Daerah yang berpotensi dalam mengembangkan madu cukup luas yang menyebar di Sumatra Utara, Riau, Sumatra Barat, Lampung, Jawa Barat, Jawa Tengah, DI Yogyakarta, Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Kalimantan, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah dan Sulawesi Tenggara.

Flores, salah satu pulau di Provinsi Nusa Tenggara Timur yang belum lama ini diperkenalkan madu yaitu “Rumundu”. Madu flores berasal dari lebah liar yang hanya bisa ditemukan di hutan-hutan Flores. Lebah – lebah madu di Flores tidak ditenakkan melainkan langsung diambil dari hutan – hutan yang ada di Flores. Salah satu lebah yang ada di hutan Flores yaitu lebah madu *Apis dorsata* yang hidup pada pohon – pohon yang tinggi dengan berbagai jenis tanaman

sebagai sumber pakan lebah. Makanan lebah yang berasal dari hutan membuat madu Flores berbeda dengan madu daerah lain (Floreskita, 2017).



Gambar 1. Madu Hutan Flores

Sumber : (Floreskita, 2017)

Madu merupakan makanan yang mengandung aneka zat gizi seperti karbohidrat, protein, asam amino, vitamin, mineral, dekstrin, pigmen tumbuhan dan komponen aromatik. Bahkan dari hasil penelitian ahli gizi dan pangan “madu” mengandung karbohidrat yang paling tinggi diantara produk ternak lainnya seperti; sus, telur, daging, keju dan mentega sekitar (82,4% lebih tinggi) setiap 100 gram madu murni bernilai 294 kalori atau perbandingan 1000 gram madu murni setara dengan 50 butir telur ayam atau 5.675 liter susu atau 1680 gram daging (Aden, 2010).

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Madu

Komposisi	Jumlah
Gula	82,12 g
Energi	304 kcal
Karbohidrat	82,4 g
Lemak	0 g
Protein	0,3 g
Asam Pantotenat (Vit. B5)	0,068 mg
Vitamin B6	0,024 mg
Folat (Vit. B9)	2 g
Air	17,1 g
Riboflavin (Vit. B2)	0,038 mg
Niacin (Vit. B3)	0,121 mg
Fosfor	4,0 mg
Potasium	52 mg
Vitamin C	0,5 mg
Kalsium	6 mg
Besi	0,42 mg
Magnesium	2 mg
Sodium	4 mg
Zinc	0,22 mg

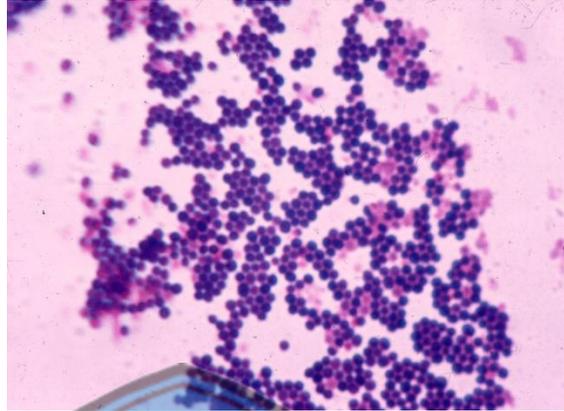
(Sumber: Data Nutrisi USDA, 2018)

2.2. *S. aureus*

2.2.1. Klasifikasi

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Clasis	: Schizomytes
Ordo	: Micrococcaceae
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Jawetz, 1996).

2.2.2. Morfologi



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus*
Sumber : (Generasiologi, 2016).

Ciri khas *S. aureus* berbentuk bulat dengan diameter 1 μm , bergerombol, tidak bergerak, tidak berspora, sel sferis dan termasuk bakteri gram positif. Pada pengecatan Gram *S. aureus* menunjukkan kokus gram positif yang tersusun dalam bentuk tidak teratur atau seperti anggur dan berwarna ungu kemerahan. Bakteri ini bersifat koagulase-positif dan DNA-ase Positif (Elliott dkk, 2013).

Biakan *S. aureus* tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerob dan mikroaerobik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37⁰C, tetapi pembentukan pigmen yang baik adalah pada temperatur ruang (20-25⁰C). pH optimal untuk pertumbuhan yaitu 7,4. Media untuk pertumbuhan bakteri *S. aureus* umumnya mengandung asam amino dan vitamin-vitamin seperti threonin, asam nikotinat dan biotin. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lembut dan mengkilap sedangkan pada pembenihan kaldu

misalnya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek *S. aureus* biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning emas pekat (Jawetz dkk, 2012).

S. aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Bahan-bahan ekstraseluler yang dibuat oleh kuman ini juga kebanyakan bersifat antigenik. Peptidoglikan, polimer sakarida, yang mengandung subunit-subunit terangkai merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dihancurkan oleh asam kuat atau pajanan terhadap lisozim. Peptidoglikan memicu produksi interleukin-1 (pirogen endogen) yang memiliki aktivitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Elliott dkk, 2013).

2.2.3. Karakteristik

a. Katalase

S. aureus menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Gillespie dkk, 2013).

b. Koagulase

S. aureus menghasilkan koagulase, suatu protein yang dapat mengumpulkan plasma yang mengandung oksalat dan sitrat. Memproduksi koagulase dianggap sama dengan memiliki potensi patogen yang invasif. Faktor penggumpalan adalah kandungan permukaan *S. aureus* yang berfungsi melekatkan organisme ke fibrin atau fibrinogen (Jawetz dkk, 2012).

c. Eksotoksin

Beberapa eksotoksin dihasilkan oleh *S. aureus* α – toksin (hemolisin) melisiskan eritrosit dan merusak trombosit. α – toksin merupakan hemolisin yang kuat, β – toksin dapat menguraikan sfingomeilin sehingga toksik bagi banyak jenis sel, seperti eritrosit. Leukosidin melisiskan sel darah putih dan merusak membran dan sel yang rentan (Elliott dkk, 2013).

d. Toksin Eksfoliatif

Toksin epidermolitik *S. aureus* merupakan dua protein yang berbeda dengan berat molekul yang sama. Toksin epidermolitik A adalah produk gen kromosomal dan tahan panas (tahan dididihkan selama 20 menit). Toksin epidermolitik B diperantarai plasmid dan tidak tahan panas. Toksin epidermolitik menyebabkan diskuamasi generalisata pada sindrom kulit. Toksin-toksin tersebut merupakan antigen super (Jawetz dkk, 2012).

e. Enterotoksin

Terdapat berbagai enterotoksin larut yang dihasilkan oleh hampir separuh galur *S. aureus*. Toksin ini tahan terhadap panas (resisten terhadap suhu 100⁰C selama 30 menit), tidak terpengaruh oleh enzim gastrointestinal dan merupakan penyebab keracunan makanan (Elliott dkk, 2013).

f. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST-1)

S. aureus juga dapat menyebabkan penyakit Toxic shock syndrom (TSS). Hal ini ditandai dengan syok dan diskuamasi kulit, dan biasanya didasari oleh *S. aureus*. Toksin ini berkaitan dengan demam, syok, ruam kulit,

dan keterlibatan multisistem organ dalam tubuh. Gen TSST-1 ditemukan hampir 20% isolat *S. aureus* termasuk MRSA (Gillespie dan Bamford, 2009).

2.2.4. Patogenesis

Sebagian bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan pada manusia. Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses nanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat dan infeksi luka. Bisul atau abses setempat seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan dan sindrom syok toksik (Jawetz dkk, 2012).

S. aureus dapat menimbulkan penyakit karena kemampuannya melekat pada sel, berkembang biak dan menyebar luas di jaringan, dan membentuk abses serta menghasilkan berbagai substansi ekstraseluler dan eksotoksin (Elliott dkk, 2013). Banyak dari enzim tersebut di bawah kontrol genetik plasmid, beberapa dengan kontrol kromosomal dan ekstrakromosal dan mekanisme genetik lainnya (Jawetz dkk, 2012).

2.3. *P. aeruginosa*

2.3.1. Klasifikasi

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Classis : Gamma Proteobacteria

Ordo : Pseudomonadales

Family : Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Anonim, 2012).

2.3.2. Morfologi



Gambar 3. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sumber : (Mikrobewiki, 2018).

Bakteri *P. aeruginosa* berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,6 x 2 μm . Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek. *P. aeruginosa* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu

memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung dan mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur N dan C. Suhu optimum untuk pertumbuhan *P. aeruginosa* adalah 42⁰C. Bakteri *P. aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya digunakan asetat (untuk karbon) dan ammonium sulfat (untuk nitrogen) (Boel, 2004).

Koloni *P. aeruginosa* adalah aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis perbenihan anggur. Beberapa strain menghemolisi darah. *P. aeruginosa* membentuk koloni halus bulat dengan warna fluoresensi kehijauan. Bakteri ini sering menghasilkan piosianin (pigmen kebiru-biruan yang tak berfluoresensi) yang berdifusi kedalam agar (Boel, 2004).

P. aeruginosa pada biakan dapat memproduksi berbagai kelompok koloni, memberikan kesan biakan campuran beberapa spesies bakteri. *P. aeruginosa* dari bentuk koloni berbeda mungkin juga mempunyai aktifitas biokimia dan enzimatik yang berbeda dan memberi profil kepekaan yang berbeda terhadap antimikroba. Biakan dari pasien dengan kistik fibrosis sering menghasilkan organisme *P. aeruginosa* yang membentuk koloni mukoid

sebagai hasil dari kelebihan produksi alginat, sebuah eksopolisakarida (Jawetz dkk, 2005).

2.3.3. Patogenesis

P. aeruginosa menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya di selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan seperti jika menggunakan kateter pembuluh darah atau saluran kencing. Bakteri menempel dan menyerang selaput lendir atau kulit menyebar dari tempat tersebut dan berakibat penyakit sistemik. Lipopolisakarida mempunyai peran langsung dalam menyebabkan demam, syok, lekositosis, lekopenia dan gejala susah bernafas pada orang dewasa. *P. aeruginosa* tahan terhadap berbagai antimikroba dan karena itu menjadi dominan dan penting jika bakteri yang lebih peka dari flora normal ditekan (Jawetz, 2005).

P. aeruginosa jarang menyebabkan penyakit pada manusia yang sehat. Biasanya penyakit muncul pada pasien yang sistem kekebalan tubuhnya terganggu oleh penyakit atau trauma. *P. aeruginosa* dapat masuk ke jaringan pasien melalui luka bakar, atau melalui penyakit yang mendasari seperti cystic fibrosis (penyakit genetik yang menyebabkan lendir dalam tubuh). Awalnya *P. aeruginosa* melekat pada permukaan jaringan menggunakan Flagellum dan pili, kemudian bereplikasi untuk menimbulkan infeksi dan pada akhirnya membuat kerusakan jaringan menggunakan faktor virulensinya. Eksotoksin dan

endotoksin kuat yang dilepaskan oleh *P. aeruginosa* selama bakteri terus menginfeksi inang bahkan setelah *P. aeruginosa* telah dibunuh oleh antibiotik, penyakit akut yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* cenderung menjadi kronis. Kecuali strain cystic fibrosis, sebagian besar strain *P. aeruginosa* yang menyerang pasien cenderung nonmucoid. Meskipun sejumlah kecil pasien yang terinfeksi oleh *P. aeruginosa* menimbulkan sepsis berat dengan lesi dan pusat hitam, sebagian besar pasien tidak menunjukkan efek patologis yang jelas dari kolonisasi.

2.4. Metode Uji Aktifitas Antibakteri

Menentukan kepekaan bakteri terhadap antimikroba dapat dilakukan melalui metode difusi. Pengujian ini memanfaatkan mikroorganisme sebagai indikator pengujian untuk mengetahui sistem pengobatan yang efektif dan efisien dalam penanganan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme uji (Pratiwi, 2008).

2.4.1. Metode Dilusi

a. Dilusi Cair

Metode ini dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran dari agen antibakteri dalam media cair kemudian ditambah mikroba uji yang dilihat pertumbuhan bakteri dari kekeruhan yang terjadi (Jawetz dkk, 2005).

b. Dilusi Padat

Metode dilusi padat ini menggunakan prinsip yang hampir sama dengan metode dilusi cair, bedanya metode ini menggunakan media padat (Rahman, 2008).

2.4.2. Metode Difusi

a. *Disk Diffusion*

Disk diffusion adalah sebuah metode pengujian untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Cakram kertas saring yang berisi agen antimikroba diletakkan pada permukaan medium agar yang telah ditanami mikroorganisme di permukaannya. Area jernih yang terbentuk setelah inkubasi menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan medium agar. Zona hambat yang terbentuk diukur untuk menentukan apakah mikroorganisme uji sensitif atau resisten dengan cara membandingkan dengan standar pada obat (Pratiwi, 2008).

b. *Cup Plate Technique*

Metode ini hampir sama dengan metode *Disk diffusion*. Metode ini dilakukan dengan cara membuat sumur pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan pada sumuran tersebut diberi agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

2.5. Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri mengganggu bagian yang peka di dalam sel yaitu :

2.5.1. Antibakteri yang mempengaruhi dinding sel

Bakteri dikelilingi oleh suatu struktur kaku yang disebut dinding sel, yang melindungi membran protoplasma dibawahnya dari trauma. Mekanisme

antibakteri akan merusak struktur dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah selesai terbentuk (Waluyo, 2004).

2.5.2. Antibakteri yang mengganggu fungsi membran sel

Membran sel berperan penting dalam sel, yakni sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan mengendalikan suasana dalam sel. Membran mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel. Nistalin bekerja dengan merusak struktur dinding sel dan memperlemah fungsi yang ada sehingga menyebabkan disorientasi komponen – komponen lipoprotein serta mencegah berfungsinya membran sebagai penghalang osmotik (Waluyo, 2004).

2.5.3. Antibakteri yang menghambat sintesis protein

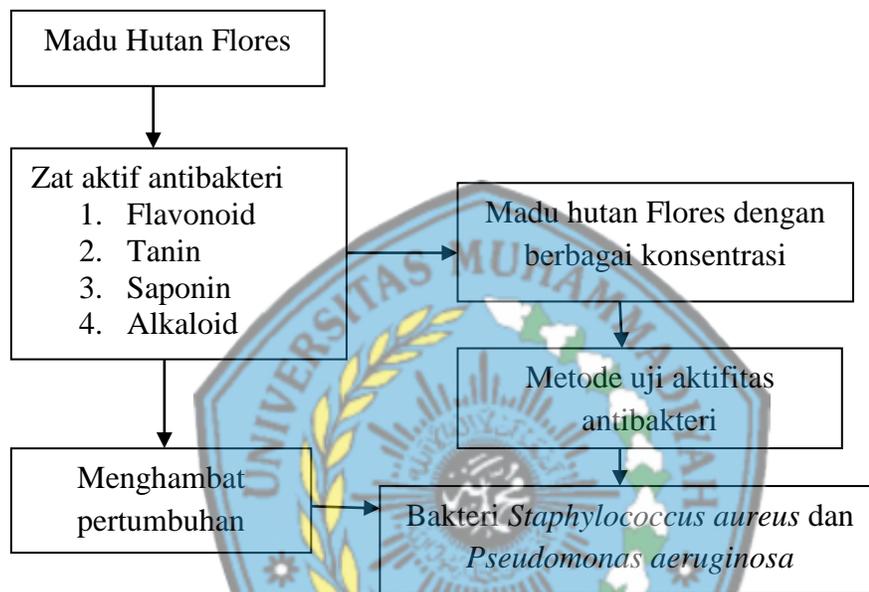
Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama yakni : Transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan Translasi (Sintesis protein yang *ARN-dependent*). Antibakteri mampu menghambat salah satu proses sintesis protein ini. Antibakteri yang bekerja dengan mekanisme ini adalah kloramfenikol (Waluyo, 2004).

2.5.4. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul – molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat (Inayatullah, 2012).

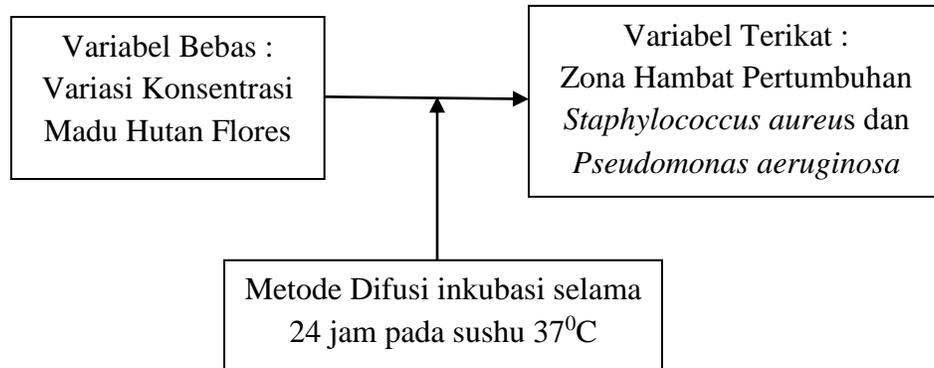
2.6. Kerangka Teori

Berdasarkan tinjauan pustaka di atas, madu memiliki zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dari teori tersebut dapat dibuat kerangka teori sebagai berikut :



Gambar 4. Kerangka Teori

2.7. Kerangka konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Variasi konsentrasi madu hutan Flores (*Apis dorsata*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.

