

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Antibiotik

Antibiotik dapat diklasifikasikan sesuai jenis bakteri mana obat tersebut bekerja. Terdapat tiga golongan yaitu: Obat yang terutama aktif terhadap organisme Gram Positif misalnya penisilin, eritromisin, dan linkomisin. Obat yang terutama aktif terhadap organisme Gram Negatif misalnya polimiksin dan asam nalidiksat dan Antibiotik spektrum luas yang aktif terhadap organisme Gram Positif dan Gram Negatif, misalnya tetrasiklin, kloramfenikol, ampisilin, sefalosporin dan sulfamid (Gould & Brooker, 2003).

2.1.a. Cara kerja antibiotik

Antibiotik bekerja dengan cara mematikan (bakterid) misalnya aminoglikosida, sefalosporin dan polimiksin dan bekerja dengan cara mencegah bakteri berkembang biak tetapi tidak memamatkannya (bakteriostatik) misalnya sulfonamide, tetrasiklin dan kloramfenikol. Banyak antibiotik yang bekerja terutama sebagai bakteriostatik dapat menjadi bakterisid pada keadaan yang memungkinkan. Faktor-faktor yang memungkinkan antara lain adalah konsentrasi obat dan jumlah serta jenis bakteri yang ada. Antibiotik menimbulkan efek secara langsung pada dinding sel bakteri atau menembusnya untuk mengganggu mekanisme di tingkat intrasel. Pada semua bakteri, dinding sel terdiri dari lapisan molekul protein yang disatukan oleh ikatan-ikatan silang, tetapi struktur halus bergantung pada apakah

mereka termasuk Gram Positif atau Gram Negatif, di mana hal ini mempengaruhi kepekaan terhadap berbagai golongan antibiotik (Gould & Brooker, 2003).

2.1.b. Reaksi Sempang Terhadap Antibiotik

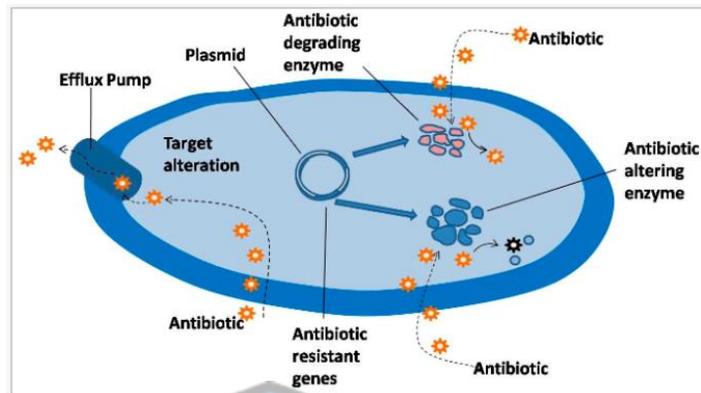
Reaksi ini timbul akibat terjadinya toksisitas kimiawi langsung yang diperantai oleh efek samping yang spesifik terkait dengan obat dan terjadi karena superinfeksi. Superinfeksi timbul setelah pengobatan dengan semua antibiotik terutama yang sering dijumpai pada pengobatan dengan antibiotik spektrum luas yang diberikan dalam jangka panjang. Reaksi simpang terhadap antibiotik kemudian disebut sebagai resistensi antibiotik.

2.1.c. Resistensi Antibiotik

Mikroorganisme resistensi antibiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme yang tidak dihambat atau dimatikan oleh antibiotik pada konsentrasi obat yang tercapai dalam tubuh. Kerentanan alamiah banyak bakteri dapat berubah oleh resistensi yang terbentuk akibat pajanan antibiotik (Gould D & Brooker C, 2003).

Selama lebih dari 60 tahun, obat anti bakteri telah dianggap sebagai obat paling ampuh untuk menyembuhkan infeksi, padahal dalam pidato Nobalnya pada tahun 1945 Alexander Fleming yang menemukan penisilin sudah memperingatkan bahwa bakteri bisa menjadi resisten terhadap obat antibakteri. Penggunaan obat antibakteri telah menyebar luas selama beberapa dekade dan penyalahgunaannya juga telah banyak dilakukan. Akibatnya, obat antibakteri ini menjadi kurang efektif atau bahkan tidak efektif dan menjadi sebuah kedaruratan kesehatan global yang cepat melampaui pilihan pengobatan yang ada (WHO, 2014).

2.1.d. Mekanisme Resistensi terhadap Antibiotik



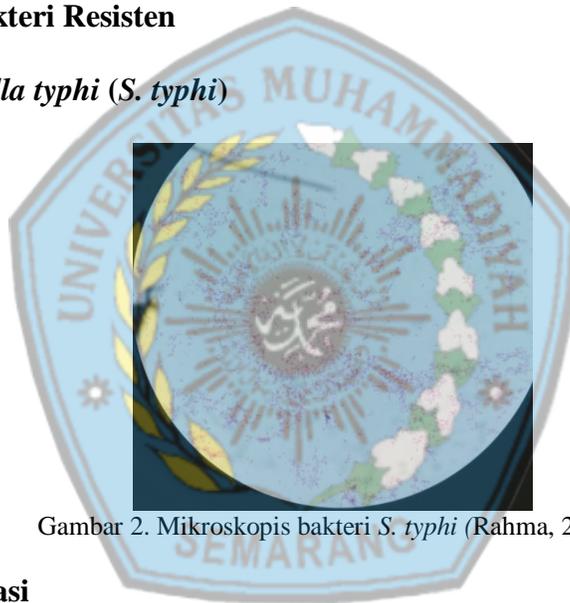
Gambar 1. Berbagai cara bakteri untuk melawan kerja Antibiotik (Anderson, 2005)

Beberapa mikroorganisme patogen menjadi resisten terhadap antibiotik β -laktam dengan memodifikasi antibiotik atau melepaskan beberapa enzim seperti transferase yang menghambat atau memecah struktur kimia antibiotik. Pada kelompok antibiotik β -laktam akan terjadi hidrolisis ikatan amida menjadi tidak efektif oleh produksi enzim β -laktamase (Stankovic, 2017; Wright 2005). Dalam kasus bakteri Gram Negatif kelompok antibiotik aminoglikosida menjadi tidak efektif karena modifikasi molekul antibiotik melalui fosforilasi, adenilasi dan asetilasi (Stankovic, 2017; Bush, 2011). Selanjutnya memodifikasi target dengan cara mengubah sistem kerja antibiotik yang sebelumnya telah dipelajari oleh bakteri. Cara kerja bakteri untuk membuat menjadi resistensi dengan mekanisme efflux (pompa) yang dikodekan oleh gen untuk mengidentifikasi dan mengeluarkan bahan kimia agen antibakteri dan senyawa struktural yang tidak terkait menghasilkan konsentrasi antibiotik yang rendah menjadi tidak memiliki atau sedikit efek pada pertumbuhan bakteri (Stankovic, 2017).

Mekanisme resistensi dikelompokkan menjadi: 1) mekanisme yang diperantarai oleh plasmid berupa aktif efluks, enzim inaktivator yang dihasilkan bakteri, pengaturan gen kromosom dan, 2) mekanisme yang diperantarai oleh kromosom yaitu perubahan target antibiotika, peningkatan sintesis metabolit yang bersifat antagonis serta pengembangan jalur mekanisme lama yang dihambat antibiotik (Cita, 2011)

2.2. Jenis Bakteri Resisten

2.2.1. *Salmonella typhi* (*S. typhi*)



Gambar 2. Mikroskopis bakteri *S. typhi* (Rahma, 2018)

2.2.1.a. Klasifikasi

Kingdom	:	Bacteria
Filum	:	Proteobacteria
Kelas	:	Enterobacteriaceae
Ordo	:	Gamma Proteobacteria
Famili	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	<i>Salmonella</i>
Spesies	:	<i>S. typhi</i> (Jawetz, 2006)

Pada manusia, *S. typhi* adalah penyebab penyakit salmonellosis dan demam enterik (tifoid) yang dihasilkan dari invasi bakteri ke aliran darah dan gastroenteritis akut oleh intoksikasi dari makanan (Gillispie & Hawkey, 2005).

2.2.1.b. Karakteristik

Pada tahun 1880-an, Eberth yang mengamati pertama kali basil tifus bagian limpa dan kelenjar getah bening mesenterika dari pasien yang meninggal karena tifus. Robert Koch mengkonfirmasi temuan terkait oleh Gafky dan berhasil membudidayakan bakteri ini pada tahun 1881. *Salmonella* berbentuk batang Gram Negatif, bersifat fakultatif anaerobik dengan suhu optimum pertumbuhannya pada 37°C dan pH 6-8, oksidatif-negatif, memfermentasi glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa, urease negatif, sitrat dan asetil metal carbinol negatif (Todar, 2012). *Salmonella* menghasilkan H₂S, isolate pada media *Salmonella-Shigella* agar (SSA) pada suhu 37°C membentuk koloni cembung, transparan dan terdapat bercak hitam dibagian pusat (Jawetz, 2006).

2.2.1.c. Struktur dan Virulensi

S. typhi adalah bakteri yang selnya berbentuk batang berukuran 0,7-1,5 µm x 2,0-5,0 µm, bersifat Gram Negatif, mempunyai komponen outer layer (lapisan luar) yang tersusun dari LPS (lipopolisakariada) dan dapat berfungsi sebagai endotoksin, yang merupakan kompleks lipopolisakarida yang berperan penting pada patogenesis demam tifoid. Endotoksin bersifat pirogenik yang menyebabkan reaksi peradangan di tempat perkembang biakan bakteri.

2.2.1.d. Patogenesis

S. typhi menyebabkan infeksi lokal dan saluran cerna tetapi bisa juga berkembang biak dalam sistem retikuloendotel yang menyebabkan infeksi sistemik dan kematian. *Salmonella* menyerang sel inang dengan merusak trans-sel sebagai sinyal host dan membuat penyusunan ulang sitoskeletal. *Salmonella* menyerbu makrofag dan berpoliferasi dalam vakuola yang terikat membran (Jenkins & Gillespie, 2006). Bakteri menginvasi ke jaringan limfosit melalui lambung dan usus, terjadi bakterimia di aliran darah yang prosesnya selama 7 -14 hari (fase inkubasi). Infeksi dapat terjadi di organ lain seperti jantung, tulang, paru, usus, ginjal empedu dan organ lainnya. Penderita karier dapat terjadi setelah penyembuhan yang tidak sempurna sehingga bakteri dapat tinggal di empedu (Kemenkes, 2006)

2.2.1.e. Epidemiologi

Pada awal abad ke -19, tifoid didefinisikan atas dasar tanda-tanda dan gejala klinis dan perubahan patologis. Namun, pada saat ini segala penyakit yang berkaitan dengan demam enterik dikarakteristikan sebagai “tifoid” (Todar, 2012). Menurut data WHO menyebutkan bahwa terjadi 17 juta kasus demam tifoid per tahunnya dan 600 ribu di antaranya menyebabkan kematian.

Prevalensi demam tifoid di Indonesia mencapai 358-810 kasus per 100.000 populasi pada tahun 2007 dengan rata-rata pertahunnya sebesar 500 per 100.000 populasi (Hatta & Ratnawati, 2008). Pemberian antibiotik pada pasien yang terinfeksi merupakan penanganan terhadap penyakit yang disebabkan bakteri

patogen. Selama 70 tahun penanganan dengan menggunakan antibiotik terjadi ketahanan bakteri (resistensi) terhadap beberapa jenis antibiotik (Levy, 1998).

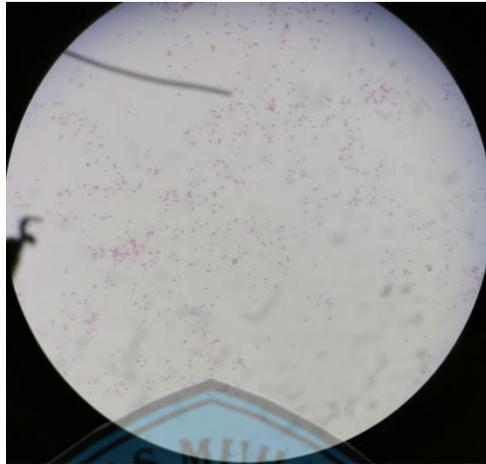
2.2.1.f. Mekanisme Resistensi Terhadap Agen Antibakteri

Mekanisme dapat terjadi karena bakteri menghasilkan inaktivator berupa enzim β -laktamase, perubahan target, sehingga kekurangan *Penicillins Binding Protein* (PBP) yang menyebabkan kegagalan dalam mengaktifkan enzim autolisis. Perubahan target (ribosom) antibiotik menghasilkan inaktivator berupa enzim asetil transferase yang menyebabkan antibiotik terdorong keluar dari sitoplasma. Bakteri yang telah resisten terhadap satu jenis antibiotik dapat juga mengembangkan resistensi terhadap antibiotik lain dengan mengembangkan jalur metabolisme lama yang dihambat antibiotik dan meningkatkan sintesis metabolit yang bersifat antagonis kompetitif melalui peningkatan sintesis PABA (*para amino benzoic acid*).

2.2.1.g. Pengobatan *S. Typhi*

Kloramfenikol saat ini masih menjadi antibiotik lini pertama untuk pengobatan demam tifoid pada anak yang dirawat di Departemen Ilmu Kesehatan RS. Cipto Mangunkusumo Jakarta. Saat ini di Negara-negara seperti Thailand, Pakistan, dan Mesir telah banyak laporan adanya keadaan multidrug resisten *S.typhi* (MDRST). Maka untuk kasus MDRST diberikan pilihan pengobatan lini kedua yaitu seftriakson dan kuinolon (Satari & Sondang, 2010). Informasi tingkat resistensi *Salmonella* terhadap antibiotik sangat penting dalam rangka penanggulangan penyakit yang efektif dan efisien dan penentuan kebijakan tentang penggunaan antibiotik (Mahatmi & Besung, 2013).

2.2.2. *Staphylococcus aureus* (*Staph. aureus*)



Gambar 3. Mikroskopis bakteri *Staph. aureus* (Rahma, 2018)

2.2.2.a. Klasifikasi

Domain	:	Bacteria
Kingdom	:	Euacteria
Filum	:	Firmicutes
Kelas	:	Bacilli
Ordo	:	Bacillales
Famili	:	Staphylococcaceae
Genus	:	<i>Staphylococcus</i>
Spesies	:	<i>Staph. aureus</i> (Rosenbach, 1884)

Staphylococcus merupakan bakteri flora normal pada manusia dan dapat menjadi patogen. Terdapat lebih dari 26 spesies *Staphylococcus* dan hanya sedikit yang merupakan bakteri patogen. *Staphylococcus aureus* adalah spesies yang paling

invasif dan dibedakan dengan spesies lain berdasarkan enzim koagulase (Stephen & Kathleen, 2012).

2.2.2.b. Karakteristik

Staph. aureus merupakan bakteri Gram Positif dan tampak bulat dengan diameter rata-rata 0,5-1,5 μm dilihat dengan mikroskop cahaya. *Staph. aureus* bersifat aerobik, anaerob fakultatif dan nonmotile. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4.0-9.8 dengan pH optimum 7.0-7.5. Tumbuh baik pada media Blood agar plate (BAP), Triptone soya agar (TSA), Heart infusion agar (HIA). Selektif media yang dapat digunakan Mannitol salt agar (MSA), Baird-parker agar, Colombia colistin-nalidixic acid agar (CNA) yang menghambat pertumbuhan Gram Negatif dan lebih memungkinkan pertumbuhan bakteri Gram Positif lainnya. (Sharon, 2006). *Staph. aureus* pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus menonjol, dan koloni kuning keemasan pada agar (Todar, 2012).

2.2.2.c. Struktur Antigen, Enzim dan Toksin

Membran sel *Staph. aureus* adalah bilayer lipid-protein yang terusun dari fosfolipid dan protein. Peptidoglikan dan asam teikoat merupakan komponen utama dinding sel *Staph. aureus*. Peptidoglikan adalah suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit yang terangkai. Polisakarida dan protein yang bersifat antigen yang merupakan substansi penting di dalam komponen dinding sel (Stephen & Kathleen, 2012).

Staph. aureus menghasilkan enzim koagulase ekstraseluler, dapat berikatan dengan protrombin dan bersama-sama menjadi enzimatik dan memulai polimerasi

fibrin. Produksi koagulase dianggap sebagai potensi patogenik invasif (Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2015). Enzim lain *Staph. aureus* menghasilkan tiga jenis haemolysin yang dikenal sebagai α -, β -, γ -toxin yang menyerang membran sel eritrosit serta beberapa jenis sel lain dari inang (Stephen & Kathleen, 2012).

2.2.2.d. Patogenesis

Staph. aureus dapat menyebabkan penyakit, baik melalui kemampuan mereka untuk berkembang biak dan menyebar luas di jaringan dan melalui produksi banyak zat ekstraselular. *Staph. aureus* menyebabkan terjadinya berbagai infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik hasil dari toksin yang bekerja pada reseptor saraf di usus (Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2015).

2.2.2.e. Epidemiologi

Staph. aureus merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi tersering di dunia (Afifurahman dkk, 2014). *Staph. aureus* dapat menyebabkan berbagai macam infeksi, terutama kulit, jaringan lunak, infeksi tulang dan aliran darah. Ini juga penyebab umum dari infeksi luka pasca operasi (ILO) (WHO, 2014).

Resistensi antibakteri dari *staph. Aureus* merupakan peristiwa paling signifikan dalam sejarah. Pada tahun 1940 awalnya resistensi terjadi terhadap penicillin setelah pengenalan penicillin ke dalam praktek klinis. Barber 1961, menemukan resistensi pada metichillin di Inggris pada isolasi pasien di RS. yang juga diamati setelah diperkenalkan pada penggunaan klinis. Setelah pertengahan tahun 1970-an, wabah infeksi besar yang disebabkan oleh MRSA dilaporkan di banyak Rumah Sakit di Inggris, Irlandia, Amerika Serikat dan Australia. Sejak

penyebarannya semakin meningkat, banyak klon MRSA menjadi endemik di seluruh dunia (Stephen & Kathleen, 2012).

Di Indonesia MRSA adalah salah satu penyebab infeksi luka pasca operasi (ILO). Penderita ILO positif MRSA sebanyak 23 kasus dari 116 sampel pada pasien pasca operasi yang diamati prosedur ganti balut dan terapi antibiotiknya di bangsal bedah RS. Dr. Kariadi (Nurkusuma, 2009). MRSA merupakan strain *Staph. aureus* yang telah resisten terhadap aktivitas antibiotik golongan β -laktam (Afifurahman dkk, 2014). MRSA positif juga ditemukan sebesar 38,24% dari 68 sampel yang di ambil dari ruang bedah dan ruang perawatan Rumah Sakit Abdul Moeloek (Mahmudah R *et al.*, 2013).

2.2.2.f. Mekanisme Resistensi Terhadap Agen Antibakteri

Resistensi terhadap metichillin terjadi karena perubahan protein pengikat penicillin (PBP). Hal ini disebabkan karena gen *mecA* mengkode 78-kDa penicillin pengikat protein 2a(PBP2a) yang memiliki afnitas yang kecil terhadap semua antibiotik β -laktam. Hal ini memudahkan *Staph.aureus* bertahan pada konsentrasi yang tinggi dari zat tersebut, resistensi terhadap metichillin menyebabkan resistensi terhadap semua agen β -laktam termasuk chepalosporin (Anggraini, 2017). Sebuah unsur genetik transposabel mobile yang disebut SCC *mec*, yang mengandung gen *mecA-resistant*, bertanggung jawab untuk resistensi pada MRSA (Stankovic, 2017; Wright 2005).

2.2.2.g. Pengobatan *Staph. aureus*

Pengobatan infeksi *Staph. aureus* biasanya menggunakan antibiotik turunan penicillin seperti metichillin, amoxicillin dan oxacillin. Namun sebagian besar strain *Staph. aureus* ditemukan telah resisten terhadap antibiotik penicillin sehingga antibiotik turunan penicillin sudah jarang digunakan. Pemilihan antibiotik lain yang sekarang digunakan untuk mengobati *Staph. aureus* yang telah resisten terhadap turunan penicillin yaitu vankomisin dan teikoplanin. Kedua antibiotik ini digunakan sebagai pilihan utama dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh MRSA. Sejak tahun 2003, alternatif dengan vankomisin telah disetujui untuk pengobatan MRSA. Beberapa strain sekarang resisten terhadap kebanyakan antibiotik konvensional dan ada kekhawatiran bahwa antibiotik baru belum tersedia (Todar, 2012).

2.3. Alternatif Pengobatan Resistensi Antibiotik

Menghadapi kesulitan dan tantangan seperti itu, ada kebutuhan mendesak untuk mencari molekul atau senyawa antibakteri yang baru dari sumber alami yang memiliki spektrum aktivitas yang luas terhadap spesies bakteri (Stankovic, 2017). 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 (Maryann,2000). Madu adalah suatu cairan kental yang mempunyai rasa manis dan lezat yang dihasilkan oleh lebah. Madu alami umumnya terbuat dari nektar yaitu suatu cairan di mahkota bunga yang diolah menjadi bahan persediaan makanan utama bagi lebah (Kompas, 2009).

2.3.1. Sifat Antibakteri dan Komposisi Madu

Madu mengandung lebih dari 200 senyawa yang terdiri dari sekitar 38% fruktosa, 31% glukosa, 10% jenis gula lainnya, 18% air dan 3% senyawa lainnya. Namun, dalam 3% senyawa lainnya terdapat campuran senyawa penting yang merupakan kandungan khusus dari madu yaitu, fenolik dan karotenoid (Alvarez-suarez *et al.*, 2010). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dengan cara mendenaturasi sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki (Julianti, 2008).

Madu mengandung zat antibakteri sehingga baik untuk mengobati luka luar dan penyakit infeksi. Madu mempunyai sifat higroskopis yaitu dapat menarik air dari lingkungan sekitarnya yang sangat baik untuk proses penyembuhan pada luka luar akibat infeksi. Madu juga mempunyai sifat osmolalitas yang tinggi (kental) sehingga bakteri sulit untuk hidup. Sifat ini hanya terdapat pada madu murni dan pada madu campuran bakteri masih bisa hidup (Suranto, 2004). Madu selama berabad-abad memiliki tempat berharga dalam pengobatan tradisional, digunakan dalam perawatan luka dan penyakit usus (Al-hajj *et al.*, 2009). Manfaat madu lainnya yang telah teruji klinis diduga karena madu memiliki osmolaritas yang tinggi, kandungan hydrogen peroksida, kandungan air yang rendah serta pH yang rendah sekitar 3,2–4,5 dapat menghambat pertumbuhan bakteri di kulit maupun di saluran lain (Pusitasari, 2007).

Mekanisme kerja senyawa organik dari kelompok flavonoid, glikosida dan polyphenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan saat menerobos dinding sel. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran isi sel, dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipida) yang akan berakibat meningkatnya permeabilitas membran, menyebabkan keluarnya isi sel. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Zulhawa, 2010).

Madu juga mengandung senyawa hydrogen peroksida (H_2O_2) yang mekanisme kerjanya hydrogen peroksida adalah dengan mendenaturasi protein dan menghambat sintesis atau fungsi dari asam nukleat bakteri dengan adanya kerusakan pada dinding sel bakteri dan gangguan pada sintesis asam nukleat, maka pertumbuhan bakteri akan terhambat (Molan, 1992).

2.3.2. Jenis Madu

Madu dapat digolongkan berdasarkan sumber utama pakan lebahnya. Misalnya lebah yang hidup diperkebunan kapuk akan menghasilkan madu yang dinamai dengan madu kapuk. Madu juga dapat digolongkan menurut jenis tanaman yang menjadi sumber nektarnya. Jika madu dihasilkan oleh lebah yang mengambil makanannya dari berbagai sumber dan tidak ada tanaman yang dominan dinamakan madu multiflora atau polifora, contohnya madu hutan yang bersifat heterogen.

Sedangkan madu yang berasal dari salah satu tanaman dominan disebut dengan madu monoflora dan madu biflora yang sumber nektarnya dari dua tanaman. Lebah memiliki kecenderungan hanya mengambil nektar dari satu jenis tanaman tertentu. Lebah tersebut baru akan mengambil nektar dari tanaman lain jika nektar dari tanaman tersebut belum mencukupi (Suranto, 2004).

2.4. Uji Aktivitas Antibakteri Pada Madu

2.4.1. Menggunakan Metode Dilusi

Metode ini menggunakan prinsip pengenceran senyawa antibakteri hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Lalu inkubasi dan diamati kekeruhannya. Larutan dengan kadar terkecil terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan dan ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KHM). Lalu KHM dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C. Media cair yang terlihat jernih ditetapkan sebagai kadar bunuh minimum (KBM) (Pratiwi, 2008).

2.4.2. Menggunakan Metode Difusi

Metode ini paling sering digunakan yang dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silider, metode sumuran/*well diffusion* dan metode cakram keras/*disc diffusion*. Metode *well diffusion* ditentukan dengan mengikuti Perez, dkk (1990) dengan sedikit modifikasi. Senyawa antibakteri diencerkan dengan air deionisasi mencapai konsentrasi yang diinginkan dan bakteri uji dibuat suspensi lalu digoreskan

pada media padat dan dibiarkan kering pada suhu kamar. Media padat dibuat sumuran dengan diameter 5 mm menggunakan *cork-borer* steril. Setelah itu, 200 μL sampel dituangkan kedalam sumur secara terpisah dan diinkubasi 37⁰C selama 24 jam. Hasilnya dengan mengukur zona di sekitar sumur dengan satuan milimeter (mm) (Aween *et al.*,2014).

Metode *disc diffusion* (Baurer, 1966) menggunakan kultur bakteri patogen digoreskan pada media NA. Cakram dibiarkan semalam untuk menyerap dengan sampel madu yang akan diuji dan kemudian dikeringkan pada 45⁰C selama 24 jam menggunakan oven yang kering. Cakram yang sudah disiapkan sebelumnya diletakkan di atas goresan kultur bakteri pada NA dan diinkubasi pada 37⁰C selama 24 jam. Diameter zona penghambatan diukur dengan satuan millimeter (mm).

2.5. Standart Penilaian Diameter Zona Hambat Antibiotik

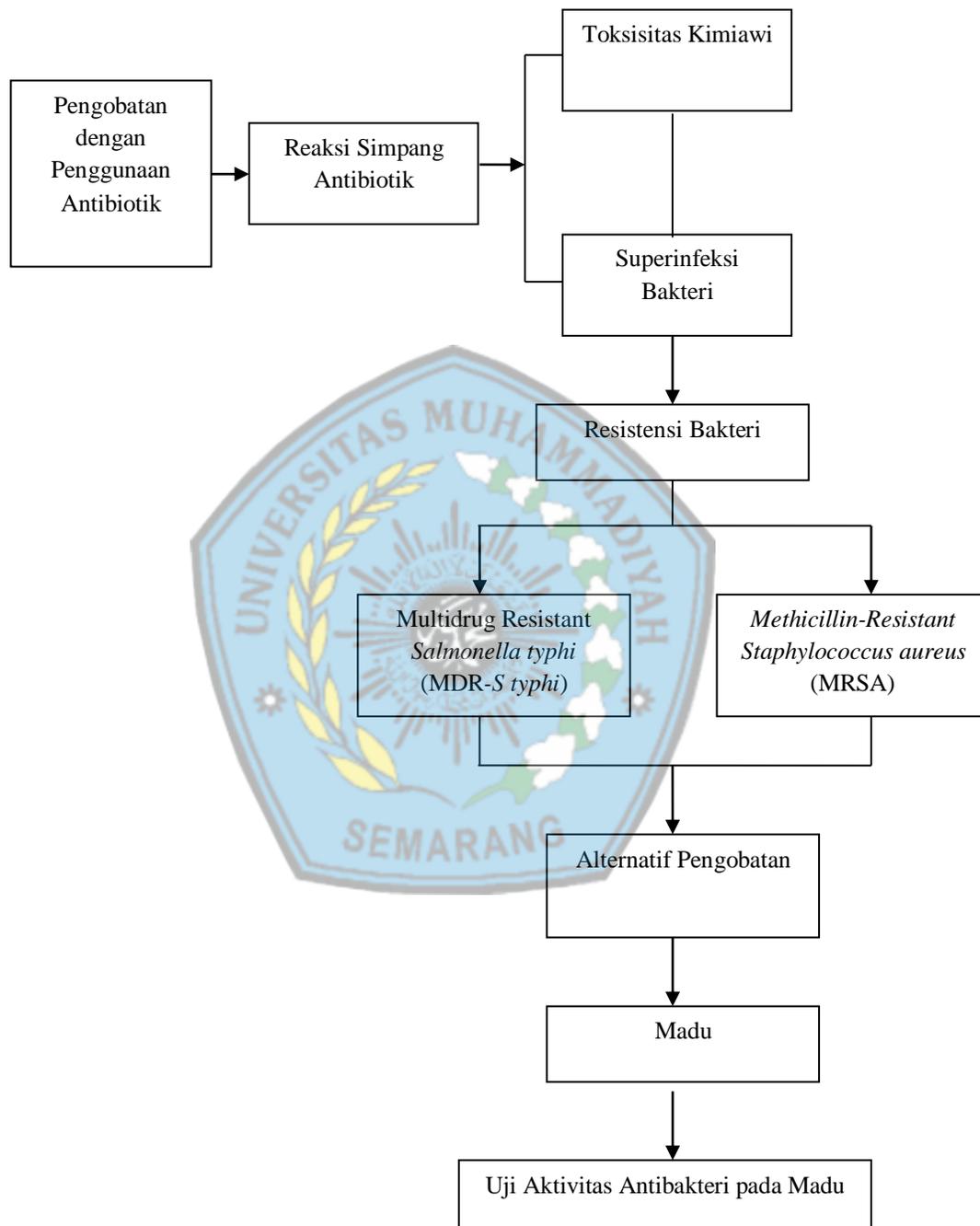
Penilaian zona hambat antibiotik menurut *Clinical and Laboratory Standarts Institute* (CLSI) akan disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Kriteria Zona Hambat Menurut CLSI

Antibiotik	Kandungan Cakram	Kriteria Interpretasi Diameter Zona Hambat dalam mm		
		<i>Susceptible</i>	<i>Intermediete</i>	<i>Resistant</i>
Sulfamethoxazole (SXT)	23,75 μg	≥ 16	11-15	≤ 10
Tetracycline (TE)	30 μg	≥ 19	15-18	≤ 14

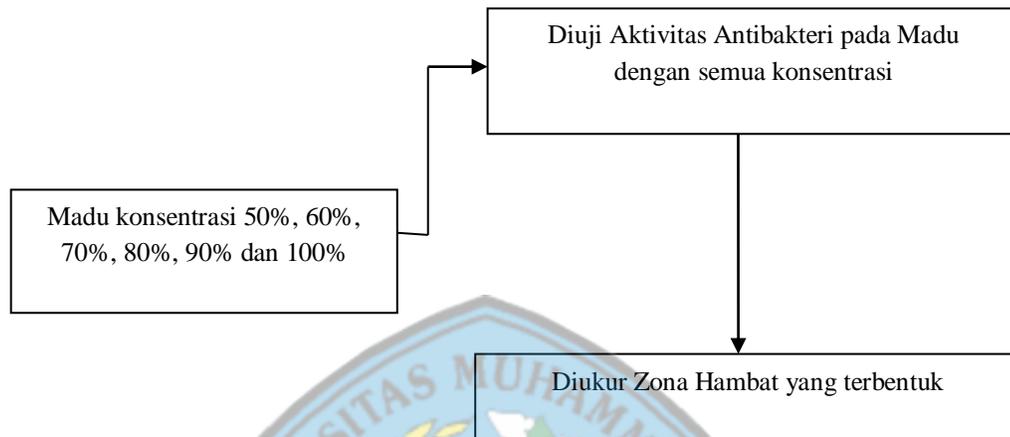
Sumber : *Clinical and Laboratory Standarts Institute* (CLSI, 2017)

2.6. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Sesuai dengan tinjauan pustaka, sampel madu yang telah diuji mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan berbagai jenis bakteri termasuk sesuai dalam penelitian ini yaitu bakteri Multidrug Resistant *Salmonella typhi* (MDR *S.typhi*) *Metichillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan dari pohon kelapa sawit.