

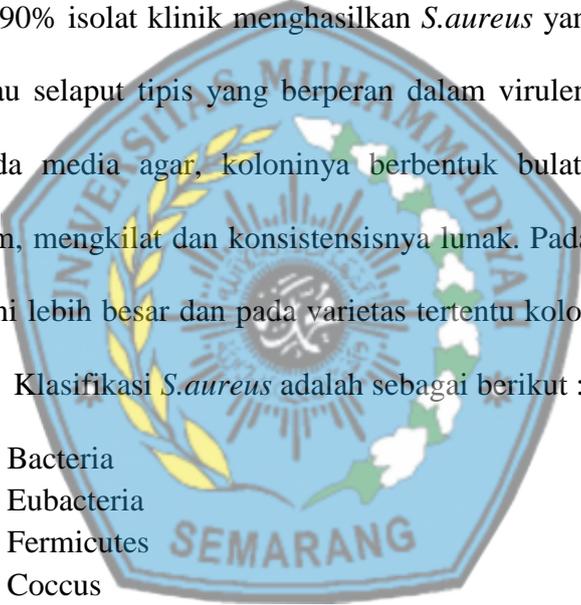
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Staphylococcus aureus*

*S.aureus* merupakan bakteri fakultatif anerob. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37° C, tetapi membentuk pigemen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada pembenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau.

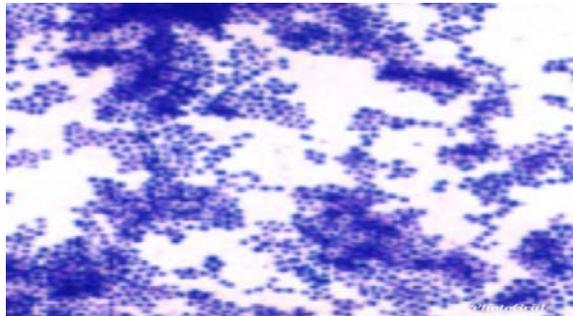
Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S.aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 2005). Pada media agar, koloninya berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Pada lempeng agar darah umumnya koloni lebih besar dan pada varietas tertentu koloninya dikelilingi oleh zona hemolisis. Klasifikasi *S.aureus* adalah sebagai berikut :



Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Coccus
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Syahrurahman <i>et al.</i> , 2010)

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Gambar 1). Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *S. aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahanya. Pada agar miring dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar, dalam keadaan

kering pada benang, kertas, kain, dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6-4 minggu (Syahrurahman *et al.*, 2010).



Gambar 1. Mikroskopik *S. aureus* (Sumber : Yuwono, 2009)

Sebagian bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi dan mampu meragikan manitol. *S. aureus* yang terdapat di folikel rambut menyebabkan terjadinya nekrosis pada jaringan setempat (Jawetz *et al.*, 2008).

*S. aureus* menyebabkan sindrom infeksi yang luas. Infeksi kulit dapat terjadi pada kondisi hangat yang lembab atau saat kulit terbuka akibat penyakit seperti eksim, luka pembedahan, atau akibat alat intravena (Gillespie, 2008). Infeksi *S. aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya infeksi pasca operasi *S. aureus* atau infeksi yang menyertai trauma.

Apabila *S. aureus* menyebar dan terjadi bakterimia, maka dapat terjadi endokarditis, osteomielitis hematogenous akut, meningitis atau infeksi paru-paru. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. *S. aureus* merupakan bakteri terbesar penyebab

peradangan pada rongga mulut setelah bakteri *Streptococcus alpha*. *S. aureus* menyebabkan berbagai jenis peradangan pada rongga mulut, seperti parotitis, cellulitis, angular cheilitis, dan abses (Najlah, 2010).

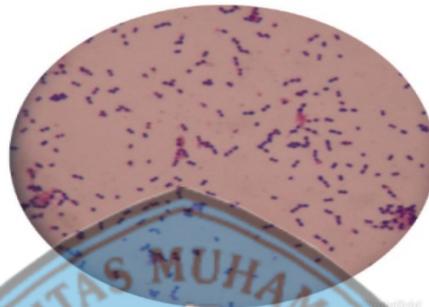
*S.aureus* dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh serta adanya beberapa zat yang dapat diproduksi, yaitu eksotoksin. Bahan ini dapat ditemukan dalam filtrat hasil pemisahan dari kuman dengan jalan menyaring kultur. Bahan ini bersifat tidak tahan pemanasan (termolabil) dan bila disuntikkan pada hewan percobaan dapat menimbulkan kematian dan nekrosis kulit.

Ada tiga sifat yang terjadi akibat eksotoksin yaitu (a) *S. aureus* alfa hemolisis yaitu suatu protein dengan berat molekul  $3 \times 10^4$  yang dapat melarutkan eritrosit kelinci, merusak trombosit dan dapat mempengaruhi otot polos pada pembuluh darah, (b) beta hemolisa yaitu suatu protein yang dapat menghancurkan eritrosit kambing tetapi tidak pada eritrosit kelinci dalam 1 jam pada temperature  $37^{\circ}$  C kemudian yang terakhir (c) gama hemolisa bersifat antigen (Depkes RI, 2011). Gambaran infeksi lokal *S.aureus* adalah suatu infeksi folikel rambut, atau abses biasanya suatu infeksi peradangan yang hebat, terlokalisir, sakit, yang mengalami pnanahan sentral dan yang sembuh dengan cepat bila nanah kemudian dikeluarkan (Jawetz *et al.*, 2005).

## 2.2 *Streptococcus pneumoniae*

*S. pneumoniae* atau pnemokokus adalah diplokokus gram-positif yang merupakan penghuni normal pada saluran pernapasan bagian atas manusia. Bakteri ini sering berbentuk bulat hingga lanset atau tersusun dalam bentuk rantai

(Gambar 2), mempunyai simpai polisakarida yang mempermudah penentuan tipe dengan anti serum spesifik. Panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan, rantai panjang akan muncul bila ditanam dalam perbenihan yang hanya sedikit mengandung magnesium (Setiabudy, 2009).



Gambar 2. Morfologi *S. pneumoniae* (Sumber: Dwiyana, 2015)

Pertumbuhan *S. pneumoniae* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan jaringan. Kuman yang patogen bagi manusia paling banyak memerlukan faktor-faktor pertumbuhan dan hemolisis dibantu oleh pengeraman dalam CO<sub>2</sub> 10%. Kebanyakan *Streptococcus* patogen tumbuh paling baik pada suhu 37<sup>0</sup> C. Kebutuhan makanan bervariasi untuk setiap spesies dimana energi utama untuk pertumbuhan diperoleh dari penggunaan glukosa (Liu *et al.*, 2008). Klasifikasi bakteri *S. pneumoniae*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Diplococcic
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Liu <i>et al.</i> , 2008).

### 2.3 Madu

Madu sudah digunakan sejak berabad-abad yang lalu. Pada zaman Mesir kuno, madu sudah menjadi barang kebutuhan rumah tangga sehari-hari. Bahkan pada masa itu, masyarakat mesir menghargai madu dengan harga yang tinggi bahkan menyamai harga mata uang yang langka. Mereka percaya pada kekuatan madu yang mereka kembangkan menjadi obat yang sangat mujarab, madu telah digunakan sebagai terapi pengobatan alternatif di Eropa untuk mengobati orang yang mempunyai kebiasaan sulit tidur (Aden, 2010).

Madu sudah diburu oleh manusia sejak 8.000 tahun yang lalu, dalam upacara adat mereka juga menggunakan madu untuk memberi makan kepada binatang yang akan dipersembahkan kepada dewa-dewa. Sebelum itu manusia sudah menggunakan madu sejak puluhan abad sebelum Masehi. Hal ini terbukti karena di gua Afrika dan Spanyol ada gambar manusia mengumpulkan madu sementara itu terdapat gambar lebah mengitari di atas mereka. Madu sudah digunakan sebagai bahan makanan atau minuman dan dijadikan obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit berat maupun ringan (Aden, 2010).

Madu hutan adalah madu yang dihasilkan dari lebah. Lebah adalah serangga yang hidup berkoloni. Setiap komunitas lebah terdiri dari ratu lebah, lebah pekerja dan lebah pejantan dimana tiap penghuni sarang lebah mempunyai tugas sendiri-sendiri. Selain menghasilkan madu lebah itu sendiri juga menghasilkan lilin yang dihasilkan dari sari bunga tumbuhan yang dihisapnya. Spesies lebah madu yang sudah diketahui adalah *Apis dorsata*, *A. laboriosa*, *A.*

*mellifera*, *A. Florae*, *A. andreniformis*, *A. cerana* dan *A. koschevnikovi*. *A. dorsata* merupakan salah satu spesies lebah yang hidupnya liar (Suranto, 2004).

Madu hutan adalah cairan yang sangat manis dan kental dengan banyak khasiat dan mudah didapat dan dihasilkan oleh lebah jenis *A. dorsata*, lebah ini adalah jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan. Umumnya lebah tersebut hidup secara alami di hutan Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, Jawa, dan kepulauan Nusa Tenggara. Jenis lebah yang penting bagi perlebahan Indonesia karena kontribusinya berupa produksi madu yang cukup tinggi serta pemanfaatannya sangat potensial dijadikan sebagai sumber mata pencaharian masyarakat sekitar hutan (Gultom, 2007).

*A. dorsata* masih sulit untuk diternak atau dibudidayakan karena hidupnya yang liar dan sifatnya yang agresif. Selain itu, karena letak sarangnya berada pada pohon-pohon tinggi, loteng, dan bukit batu yang terjal di hutan. Pada satu pohon biasanya terdapat 5-10 koloni. Produk utama dari lebah jenis *A. dorsata* ini adalah madu malam dengan produksi mencapai 10-20 kg per koloni per panen, jika sarang yang dibuat lebih besar dapat memproduksi madu sampai 30 kg. Lebah *A. dorsata* hanya hidup dan berkembang di kawasan subtropis dan tropis Asia seperti di Indonesia (Suranto, 2004).

Usaha ternak lebah madu merupakan usaha pengembangan dan penjualan produk hasil ternak lebah madu. Usaha tersebut dilakukan untuk memenuhi kebutuhan produk madu yang terus meningkat. Besarnya permintaan terhadap madu belum dapat diimbangi oleh kemampuan industri perlebahan dalam

meningkatkan produksi madu, sehingga untuk mengatasi kondisi tersebut maka pengembangan usaha lebah madu perlu dilakukan (Setiawan *et al.*, 2015).

Ternak lebah madu sudah lama dilakukan oleh masyarakat tradisional di Indonesia. Kegiatan ternak ini umumnya dilakukan oleh masyarakat di pelosok pedesaan, terutama berdampingan dengan usaha tani masyarakat. Saat ini, kegiatan ternak terus meningkat, hal ini dikarenakan makin meningkatnya semangat hidup sehat setiap orang salah satunya dengan mengonsumsi madu. Terdapat beragam jenis lebah yang bisa ditenakkan diantaranya spesies lebah hutan (*Apis mellifera*), spesies lebah ternak Asia ( *Apis cerana*/*Apis indica*) (Setiawan *et al.*, 2015).

Terdapat beberapa perbedaan antara madu ternak dan madu hutan. Menurut anonim (2011) perbedaan itu diantaranya adalah :

a. Jenis lebah

Madu hutan dihasilkan dari lebah jenis *A. dorsata* sedangkan madu ternak dihasilkan dari jenis *A. cerana* atau *A. mellifera*. Jenis sarang yang dihasilkan masing-masing jenis lebah berbeda. Jenis nektar yang dihisap juga berbeda sehingga akan menghasilkan rasa dan warna yang berbeda.

b. Perlakuan

Madu hutan didapat dari jenis lebah air yang sampai saat ini belum dapat dibudidayakan, sedangkan madu ternak berasal dari madu yang telah dibudidayakan.

c. Kadar air

Kadar air lebah hutan akan lebih berpengaruh terhadap musim karena lebah tersebut membuat sarang di hutan dengan tempat yang terbuka sedangkan lebah ternak berada pada kotak sehingga kadar air yang dihasilkan juga berbeda. Kadar air madu hutan sekitar 24% sedangkan kadar air madu ternak sekitar 21%.

Madu ini dihasilkan oleh lebah dari nektar tumbuhan. Nektar tanaman adalah cairan campuran air (80%), gula kompleks alami dan asam amino esensial. Petani biasanya memanen madu dengan cara tradisional. Akan tetapi, cara tersebut dapat berpengaruh terhadap kualitas madu yang dihasilkan. Biasanya panen akan dilakukan di malam hari dan menggunakan pengasapan dengan akar kayu.

Proses pemanenan sebenarnya cepat hanya membutuhkan waktu 15 menit bila semua berjalan lancar dan ketika terkena kepulan asap maka lebah yang berada disarang akan terbang dari sarangnya. Setelah sarang madu diambil maka dilanjutkan dengan memeras madu yang diperoleh, tidak semua madu hutan yang diperoleh berkualitas. Madu hutan ini sendiri dapat menjadi tidak berkualitas karena pemanenan pada sarang yang belum matang, diperas bersama sarangnya dan tidak dipisahkan dari kotoran dan lebah mati. Setelah itu, untuk mendapatkan madu yang berkualitas dapat dilakukan dengan cara yaitu sarang yang didapat diletakkan pada tempat yang bersih, kemudian dibersihkan dari kotoran dan lebah yang mati, pisahkan bagian anakan dan bagian anakan dan bagian polen, lalu potong sarang menjadi bagian-bagian kecil melintang dan buka bagian tutup lilin sarang. Letakkan di kain bersih dan ikat, madu akan menetas ke dalam wadah

penampung, wadah penampung madu harus bersih dan kering serta mempunyai tutup kedap udara. Madu jangan diperas bersama sarangnya. Kebersihan selama proses pembuatan dan pengolahan madu sangatlah penting. Madu hutan memiliki banyak kandungan nutrisi yang bermanfaat untuk tubuh. Kandungan madu seperti yang tertulis pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Madu Hutan

Kandungan	Rata-Rata	Kisaran	Standar Deviasi
Fruktosa Glikosa	1,23	0,76-1,86	0,126
Fruktosa %	38,38	30,91-44,26	1,77
Glukosa %	30,31	22,89-44,26	3,04
Maltosa %	7,3	2,7-16,0	2,1
Sukrosa %	1,31	0,25-16,0	0,87
Gula %	83,72	-	-
Mineral %	0,169	0,020-1,028	0,15
Asam bebas	0,43	0,13-0,92	0,16
Nitrogen	0,041	0,000-0,133	0,026
Air %	17,2	13,4-22,9	1,5
pH	3,91	3,42-6,01	-
Total Keasaman	29,12	8,68-59,49	10,33
Protein	168,6	57,7-56,7	70,9

Sumber : (Suranto, 2004)

Selain itu madu juga memiliki kandungan senyawa organik seperti polifenol, flavonoid, alkaloid, dan hidrogen peroksida yang bersifat antibakteri yang dapat merusak dinding sel sehingga dapat mengambat dan membunuh bakteri (Hariyati, 2010). Selain kandungan yang terdapat pada madu hutan, madu juga memiliki spesifikasi menurut Suranto (2007) sebagai berikut :

a. Warna

Warna madu bervariasi dari transparan hingga tidak berwarna seperti air dan dari warna terang hingga hitam. Warna dasar madu adalah kuning kecoklatan seperti gula karamel. Warna madu dipengaruhi oleh sumber nektar, usia madu, dan penyimpanan.

b. Kekentalan (Viskositas)

Madu yang baru diekstrak berbetuk cairan kental. Kekentalannya tergantung dari komposisi madu, terutama kandungan airnya. Bila suhu madu meningkat, kekentalan madu akan menurun.

c. Aroma

Aroma madu yang khas disebabkan oleh kandungan zat organik yang mudah menguap (volatil). Komposisi zat aromatik dalam madu bisa bervariasi sehingga wangi madu pun menjadi unik dan spesifik. Aroma madu bersumber dari zat yang dihasilkan sel kelenjar bunga yang tercampur dalam nektar dan juga proses fermentasi gula, asam amino, dan vitamin selama pematangan madu.

Selain spesifikasi madu mempunyai manfaat dalam dunia kesehatan, karena madu memiliki kandungan antimikroba, dan juga mempunyai kemampuan dalam membunuh bakteri seperti bakteri gram positif dan gram negatif. Seperti riset yang diterbitkan tahun 1985 di sebuah jurnal Medis Afrika Selatan dan jurnal Farmakologi dan obat tahun 1983, dinyatakan bahwa madu meningkatkan tekanan osmosis di atas permukaan luka sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. (Hammad, 2010). Disisi lain, madu hutan diduga memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan madu hasil budidaya, karena madu hutan diperoleh dari pemanen madu dengan jenis pakan multflora madu memiliki komposisi kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda berdasarkan sumber pakan nektarnya. Perbedaan tersebut diduga mempengaruhi perbedaan aktivitas madu sebagai antibakteri dan antioksidan.

## 2.4 Antibakteri

Antibakteri ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama berfungsi dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba lain. Banyak antibiotik yang dibuat secara semisintetik atau sintetik penuh.

Antibiotika merupakan zat yang dihasilkan suatu mikroba untuk menghambat maupun untuk membasmi mikroba lain. Pemberian antibiotik yang tepat pada penderita demam tifoid akan membantu proses penyembuhan. Penderita demam tifoid umumnya mengkonsumsi antibiotik seperti Kloramfenikol, Ampisilin, Amoxicilin, dan Ciprofloxacin, dan Ciprofloxacin (Tapan, 2004).

Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba, penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba. Berdasarkan sifat toksitas selektif, ada mikroba yang bersifat menghambat mikroba, dikenal sebagai *aktivitas bakterisid* (Avista, 2016). Mekanisme antibiotik dibagi menjadi 5 cara yaitu:

- 1) Penghambatan sintesis dinding sel

Dinding sel berfungsi mempertahankan bentuk mikroorganisme. Kerusakan dinding sel dapat mengakibatkan lisis pada sel dan kerusakan pembentukan sel> pada lingkungan hipertonik mengakibatkan terbentuknya “protoplas” bakteri yang bulat pada bakteri gram positif dan “sferoplas” pada bakteri gram negatif.

Langkah pertama kerja obat dengan mengikat obat pada reseptor sel diantaranya adalah enzim transpeptidase, setelah itu reaksi transpeptidase dihambat dan disintesis peptidoglikan tertahan. Langkah berikut adalah pembuangan atau penghentian dengan mengaktifkan enzim lisis dan akan menyebabkan lisis pada lingkungan isotonik. Contoh antibiotik dengan mekanisme menghambat sintesis dinding sel yaitu sefalosprin, sikloserin, penicillin, dan vankomisin. Beberapa obat lain termasuk teikoplanin, vankomisin, dan ristosetin menghambat langkah awal dalam sintesis peptidoglikan, karena tahap awal sintesis terjadi dalam selaput sitoplasma sehingga obat-obat ini harus menembus selaput agar efektif (Jawetz *et al.*, 2005)

2) Penghambatan fungsi selaput sel

Sitoplasma semua sel dibatasi oleh selaput sitoplasma yang berfungsi mengendalikan susunan dalam dari sel. Mekanisme antibiotik ini sama seperti kerja polimiksin pada bakteri gram negatif dan kerja polien pada jamur. Polien membutuhkan ikatan terhadap stereol yang ada pada selaput sel jamur tetapi tidak ada pada selaput bakteri, sehingga polimiksin tidak aktif terhadap jamur dan polien tidak aktif terhadap bakteri. Contoh antibiotik dengan mekanisme menghambat fungsi selaput sel yaitu amfoterisin B, kolistin, imidazol, polien dan polimiksin. (Jawetz *et al.*, 2005)

3) Penghambatan sintesis pada protein

Telah dipastikan bahwa kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, linkomisin, dan aminoglikosida dapat menghambat sintesis protein pada bakteri, pada sintesis protein bakteri yang normal, pesan mrna “dibaca” sekaligus oleh beberapa

ribosom yang terbentuk sepanjang untaian mrna dan dinamakan polisom. (Jawetz *et al.*, 2005).

4) Penghambatan sintesis asam nukleat

Rifampin, kuinolon, pirimetamin, sulfonamide, dan trimetoprin dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui ikatan kuat pada bakteri (Jawetz *et al.*, 2005). Antibiotik ini menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara berikatan dengan  $\beta$ -subunit sari RNA polymerase sehingga menghambat transkripsi RNA dan pada akhirnya sintesis protein terganggu dan akan menghambat replikasi dan transkripsi DNA (Agustini, 2007).

5) Penghambatan metabolisme bakteri

Antibiotik bersifat inhibitor kompetitif terhadap enzim *dihydropteroate sintetase* (DHPS), sehingga menghambat asam tetrahidrofolat pada bakteri. Asam tetrahidrofolat berfungsi dalam pembentukan dan pemeliharaan sel serta sintesis DNA dan protein (Bakhriansyah, 2008).

## 2.5 Metode Pengujian Antibakteri

Pada pengujian ini yang akan diukur adalah respon pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Salah satu manfaat dari uji antibakteri adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Beberapa cara pengujian antibakteri sebagai berikut :

1. Metode Dilusi

Pada metode ini, senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}$  C selama 18-24

jam dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan (Lenny, 2016).

Menurut Djide (2008) larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai kadar hambat tumbuh minimum (KHTM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 18-24 jam, lalu diamati ada atau tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai kadar bunuh minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC).

## 2. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas berdasarkan pada kemampuan difusi dari zat antibakteri dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidak zona hambatan yang terbentuk disekeliling zat antibakteri pada masa inkubasi tertentu. Pada metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara :

### a. Cara cakram (Disk)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibakteri. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasikan bakteri uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari bakteri uji.

Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

b. Cara parit (Ditch)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit, parit tersebut berisi zat antibakteri, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambat yang akan terbentuk disekitar parit.

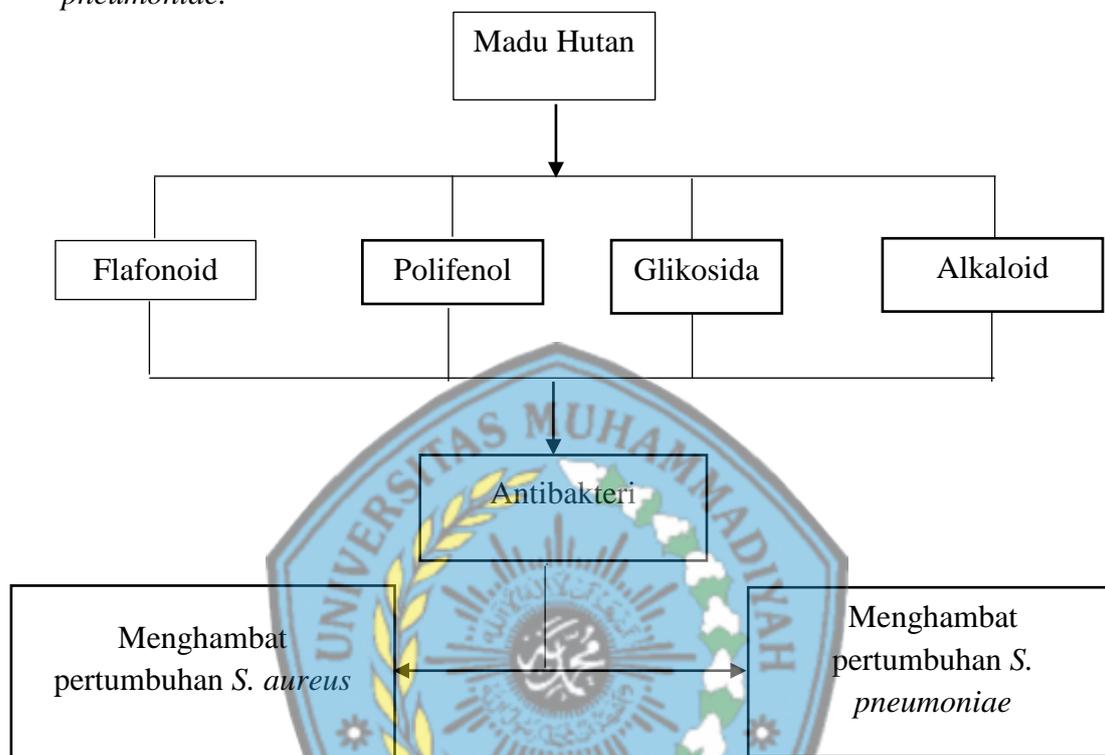
c. Cara sumuran

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antibakteri uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang (Prayoga, 2013).

## 2.6 Kerangka Teori

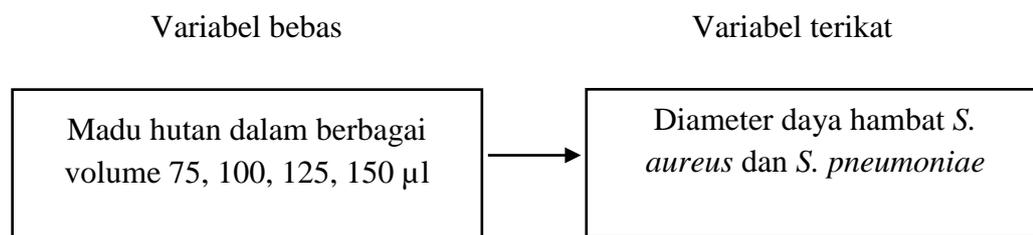
Madu hutan adalah madu yang dihasilkan oleh lebah liar (*Apis dorsata*), yaitu jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan (Hartini, 2017). Salah satu hutan di Indonesia yang menghasilkan madu hutan yaitu Hutan Pedalaman Ulobongka Kabupaten Tojo Una-Una Provinsi Sulawesi Tengah. Madu memiliki kandungan senyawa organik seperti polifenol, flavonoid, alkaloid, dan glikosida yang bersifat antibakteri yang dapat merusak dinding sel sehingga dapat mengambat dan

membunuh bakteri (Hariyati, 2010). Antibakteri ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia seperti *S. aureus* dan *S. pneumoniae*.



Gambar 3. Kerangka Teori

## 2.5 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

## 2.6 Hipotesis

Terdapat pengaruh madu hutan terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *S. pneumoniae*.