



Daya Hambat Madu Seulawah terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Rizka Ramadhan¹, Kartini Hasballah², Suryawati Suryawati², Vera Dewi Mulia³

1) Prodi Pendidikan Dokter, FK, Universitas Syiah Kuala, Jl. Tgk Tanoh Abee, Darussalam, Banda Aceh 24415

2) Bagian Farmakologi, FK, Universitas Syiah Kuala, Jl. Tgk Tanoh Abee, Darussalam, Banda Aceh 24415

3) Prodi Patologi Anatomi, FK, Universitas Syiah Kuala, Jl. Tgk Tanoh Abee, Darussalam, Banda Aceh 24415

INFO ARTIKEL

* Penulis koresponden
email: suryawatie@unsyiah.ac.id

Kata kunci:
Antimikroba
Madu Seulawah
Methicillin
Resistant
Staphylococcus aureus

Keywords:
Antimicrobial
Seulawah honey
Methicillin
Resistant
Staphylococcus aureus

ABSTRAK

Angka resistensi bakteri terus mengalami peningkatan dan menimbulkan masalah besar di seluruh dunia. Salah satu bakteri yang telah mengalami resistensi adalah Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri ini merupakan *Staphylococcus aureus* yang telah mengalami perubahan kode genetik sehingga menjadi resisten terhadap semua strain antibiotik beta-laktam. Terkait dengan tingginya angka resistensi bakteri terhadap antibiotik maka diperlukan alternatif obat baru, salah satunya adalah dengan menggunakan bahan alam yang dipercaya memiliki efek antimikroba yaitu madu Seulawah. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan daya hambat madu Seulawah dan pengaruh konsentrasinya terhadap MRSA. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat kali pengulangan, yang terdiri dari enam kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok kontrol negatif (akuades), kelompok kontrol positif (linezolid 30 µg), dan kelompok madu Seulawah dengan konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 100%. Uji daya hambat antimikroba ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian ini menunjukkan madu Seulawah dengan konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 100% masing-masing memiliki daya hambat terhadap MRSA dengan diameter zona hambat rata-rata 8,40 mm, 8,62 mm, 9,61 mm, dan 11,91 mm. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji metode Mann-Whitney yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa madu Seulawah memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan MRSA

ABSTRACT

Bacterial resistance rate has increase and cause major problems in the entire world. One of bacteria that has been resistant is Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA is a *Staphylococcus aureus* that has encoded a gene that is resistant to all beta-lactam antibiotics. Due to the high number of bacterial resistance then, it is crucial to find a new alternative antibiotics, and one of the ways is to use natural resources which are believed to have an antimicrobial effect. One of this natural resources is Seulawah honey. The purpose of this study was to determine the antimicrobial activity of Seulawah honey and to find the effect of its concentration against MRSA. This study is an experimental study using Completely Randomized Design with four replications on six treatment groups. The treatment group consisted of negative control group (distilled water), positive control group (linezolid 30 µg), and the group of Seulawah honey with a concentration of 70%, 80%, 90% and 100%. This antimicrobial inhibition test used disc diffusion method. The results shows that the Seulawah honey with a concentration of 70%, 80%, 90% and 100% respectively had inhibitory effect against MRSA. The average of inhibitory zones are 8,40 mm, 8,62 mm, 9,61 mm and 11,91 mm. The data was first analyzed statistically by Kruskal Wallis and continued by using Mann-Whitney. It shows that there were a significant difference among treatment groups ($p < 0.05$). The conclusion is, Seulawah honey can inhibit the growth of MRSA

1. PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik telah menyebar luas selama beberapa dekade terakhir. Sejak tahun 2005- 2015, angka

resistensi antimikroba terus meningkat hingga mencapai hampir 40% (Cecchini, 2019). Peningkatan resistensi bakteri yang terus terjadi disebabkan karena penggunaan antibiotik

yang tidak rasional dengan angka kejadian sebesar 30%-80% (WHO, 2014; Ventola, 2015). World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa Asia Tenggara menduduki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA) (Cecchini, 2019)

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) telah menjadi penyebab utama infeksi di berbagai rumah sakit di seluruh dunia. Bakteri MRSA dapat menyebabkan berbagai infeksi, seperti pneumonia, meningitis, endokarditis, infeksi kulit, dan jaringan lunak (Putra *et al*, 2014). Munculnya strain MRSA menyebabkan peningkatan angka kejadian infeksi *Staphylococcus aureus* yang signifikan dalam kasus resisten terhadap antibiotik golongan beta- laktam seperti penisilin spektrum luas (methicillin, oxacillin, nafcillin) dan sefalosporin (Negara, 2014).

Oleh karena itu, dibutuhkan pengembangan riset dari berbagai sumber bahan obat yang dapat digunakan dalam upaya mengurangi kejadian infeksi. Salah satu bahan alam yang memiliki aktivitas antimikroba adalah madu Seulawah. Kandungan antimikroba yang terdapat di dalam madu Seulawah adalah saponin, alkaloid, tanin, fenol, dan steroid. Selain itu, efek antimikroba yang terdapat di dalam madu juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti kadar gula yang tinggi, tingkat keasaman madu, dan kadar air yang rendah, sehingga mampu menghambat pertumbuhan serta membunuh mikroorganisme patogen (Fadhmi & Syaukani, 2015)

Hasil penelitian Fadhmi & Syaukani (2015) tentang aktivitas antimikroba madu Seulawah terhadap *S. aureus* menghasilkan daya hambat sebesar 21,7 mm yang tergolong kuat sesuai kriteria morales (Fadhmi & Syaukani, 2015). Angka kejadian resistensi mikroba terhadap madu juga belum pernah diteliti karena terdapat perbedaan struktur yang sangat signifikan antara madu dan antibiotik, sehingga membuat madu menjadi agen antimikroba yang sangat baik untuk diteliti (Dewi, 2017)

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unsyiah yang Kecamatan dilaksanakan sejak bulan September hingga November 2019. Penelitian ini menggunakan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang diambil dari isolat pus pasien anemia di Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUDZA dan madu Seulawah yang diambil dari Desa Saree Aceh, Lembah Kabupaten Aceh Besar.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan desain post test only group control. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setiap kelompok perlakuan diberikan madu Seulawah dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, dan 100%. Kelompok kontrol menggunakan akuades steril sebagai kontrol negatif dan Linezolid 30 µg sebagai kontrol positif. Perlakuan pada setiap kelompok diulang sebanyak 4 kali berdasarkan rumus Federer.

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang digunakan diidentifikasi terlebih dahulu melalui pewarnaan Gram, uji katalase, uji koagulase, dan hasil VITEK,

sedangkan madu Seulawah dilakukan pengujian kualitas madu melalui uji kadar air, kadar gula total, pH, dan uji fitokimia untuk menilai kualitas madu serta senyawa antimikroba yang terkandung di dalam madu Seulawah. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Analisis data menggunakan metode Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk menilai apakah terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kualitas Madu Seulawah

Tabel 1 menunjukkan hasil analisis kadar gula total, kadar air, dan pH madu Seulawah

Tabel 1. Hasil Uji Kualitas Madu Seulawah

Kadar Gula	Kadar Air	pH
5,5 Brix ¹	20%	3,97

Keterangan :

1 : Madu Seulawah telah diencerkan sebanyak 20 kali pengenceran.

Madu Seulawah memiliki kandungan kadar gula yang tinggi serta kadar air dan pH yang rendah. Hal ini sangat mendukung dalam proses penghambatan pertumbuhan bakteri. Kandungan gula yang tinggi pada madu akan menimbulkan larutan madu sangat hipertonis yang akan menyebabkan bakteri mengalami dehidrasi berat karena adanya efek osmosis sehingga akan melisis bakteri. Madu memiliki pH yang bersifat asam, sehingga mampu mendenaturasi sel bakteri. Hal ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena pH optimum untuk pertumbuhan bakteri berada pada kisaran pH 6-8. Selain itu, madu juga memiliki kadar air yang sangat rendah (17-22%) dimana bakteri ini tidak mampu bertahan hidup pada kadar air yang rendah karena akan menimbulkan osmotic shock dan plasmolisis sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Yuliati, 2017).

Uji Fitokimia Madu Seulawah

Uji fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa aktif pada madu Seulawah yang diduga memiliki daya antimikroba dan antioksidan.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Madu Seulawah

Kandungan Kimia	Reagen	Hasil Uji	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
	Wagner	-	Tidak terbentuk endapan coklat
	Dragendorff	-	Tidak terbentuk endapan merah
Steroid	Uji Liebermann-Burchard	+	Hijau atau Biru
Terpenoid	Uji Liebermann-Burchard	-	Tidak terbentuk warna merah
Saponin	Akuades	+	Berbusa

Flavonoid	Mg dan HCl	+	Merah jingga
Tanin dan Senyawa Fenol	FeCl ₃	+	Hijau kehitaman

Keterangan:

+ : Teridentifikasi mengandung senyawa aktif tersebut.

- : Tidak teridentifikasi mengandung senyawa aktif tersebut.

Berdasarkan hasil uji fitokimia (Tabel 2) diperoleh bahwa madu Seulawah memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, saponin, tanin, fenol, dan steroid.

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri. Proses tersebut dimulai dari perusakan fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, ion H⁺ dari flavonoid akan menyerang gugus fosfat sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi fosfogliserol, asam fosfat, dan asam karboksilat. Hal tersebut menyebabkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma yang pada akhirnya menyebabkan kebocoran dari sel serta pengeluaran bahan- bahan metabolisme sehingga bakteri lisis (Pestianti, 2018).

Tanin merupakan turunan dari polifenol yang memiliki mekanisme untuk mengkoagulasi dan mendenaturasi protein. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin dapat mengganggu adhesi sel, enzim, polipeptida, dan transport protein pada lapisan dalam sel. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Dewi *et al*, 2014). Saponin merupakan salah satu senyawa glikosida (Tangusop *et al*, 2018). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan menurunkan tegangan permukaan sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Saponin mampu berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dengan mengganggu dan mengurangi kestabilannya. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar sel dan mengakibatkan kematian sel (Suryani *et al*, 2019). Steroid adalah senyawa organik lemak sterol yang tidak terhidrolisis dan merupakan hasil reaksi dari terpena atau skualena. Steroid memiliki sifat yang permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga mampu berinteraksi dengan membran fosfolipid. Hal ini akan menyebabkan penurunan integritas membran serta gangguan pada morfologi membran sel yang menyebabkan bakteri mengalami lisis dan mati (Sudarmi *et al*, 2017)

Fenol merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antimikroba berspektrum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Fenol mampu berinteraksi dengan bakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan lisis sel yang ditandai dengan

kebocoran komponen intraseluler serta koagulasi sitoplasma sel (Sudarmi *et al*, 2017).

Uji Daya Hambat Madu Seulawah Terhadap MRSA

Hasil pengukuran zona hambat madu Seulawah terhadap MRSA dapat dilihat pada tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Madu Seulawah Terhadap MRSA

No.	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-Rata Diameter
	I	II	III	IV	
P0	0	0	0	0	0,00
P1	8,24	8,21	8,90	8,26	8,40
P2	8,57	8,39	9,06	8,45	8,62
P3	9,58	9,10	9,56	10,18	9,61
P4	12,17	11,78	12,02	11,67	11,91
P5	29,42	30,36	30,91	30,66	30,34

Keterangan:

P0 : Kontrol negatif (akuades steril)

P1 : Madu Seulawah konsentrasi 70%

P2 : Madu Seulawah konsentrasi 80%

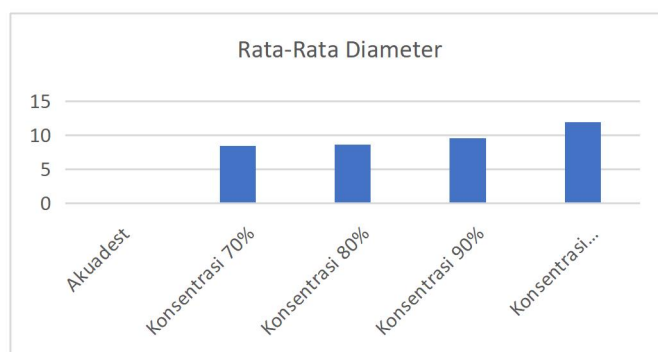
P3 : Madu Seulawah konsentrasi 90%

P4 : Madu Seulawah konsentrasi 100%

P5 : Kontrol positif (Linezolid) 30 µg

Nilai rata-rata zona hambat pada kelompok uji madu Seulawah dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 100%, dan kelompok kontrol positif (linezolid 30 µl) menunjukkan perbedaan dengan kelompok kontrol negatif (akuades steril). Kelompok madu Seulawah pada konsentrasi 70%, 80%, 90%, 100%, dan kelompok kontrol positif (linezolid 30 µl) memiliki daya hambat terhadap MRSA yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Sedangkan kelompok kontrol negatif (akuades steril) tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Hasil daya hambat terbesar yang diperoleh yaitu pada konsentrasi madu 100% yaitu sebesar 11,91 mm. yang tergolong ke dalam kriteria sedang menurut Morales *et al*(2003).

Gambar 1. Diameter Zona hambat Madu Seulawah Terhadap MRSA



Perbedaan zona hambat yang terjadi diperkirakan karena sifat fisik dan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam madu Seulawah sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Madu Seulawah memiliki kandungan gula yang tinggi (5,5 Brix), kadar air yang rendah (20%), dan pH yang rendah (3,97). Selain itu,

daya hambat yang diperoleh juga dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam madu Seulawah, yaitu alkaloid, saponin, tanin, fenol, dan steroid. Setiap sifat fisik madu dan senyawa metabolit sekunder saling berinteraksi secara sinergis melalui berbagai mekanisme sehingga akan meningkatkan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA (Dewi *et al*, 2014)

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh bahwa madu Seulawah mampu menghambat pertumbuhan MRSA dengan konsentrasi yang paling efektif adalah pada konsentrasi 100%. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka semakin besar pula zona hambat pertumbuhan MRSA yang dihasilkan.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Cecchini M. (2019). *Antimicrobial resistance. European Center for Disease Prevention and Control*. 9-10.
- Dewi MA. (2017). Uji aktivitas antibakteri beberapa madu asli lebah asal Indonesia terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Ilmiah Farmasi*. 5(1):27-30.
- Dewi MK, Ratnasari E, Trimulyono. (2014). Aktivitas antibakteri ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *J Lentera Bio*. 3(1):52-7.
- Fadhmi, Mudatsir, Syauckani E. (2015). Perbandingan daya hambat madu Seulawah dengan madu Trumon terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J Biotik*. 3(1):9 -14.
- Morales G, Sierra P, Mancilla, Paredes A, Loyola LA, Gallardo O, Borquez J. (2003). Secondary metabolites from four medicinal plants from Northern Chile, antimicrobial activity, and biotoxicity against *Artemia salina*. *J Chile Chem*. 48(2).
- Negara KS. (2014). Analisis implementasi kebijakan penggunaan antibiotika rasional untuk mencegah resistensi antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar : studi kasus infeksi Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* analysis the implementation policy of rational use of antibioti. *J ARSI*. 1(1):42-50.
- Pestianti I, Baharuddin M, Sappewali S. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah hutan (*Apis dorsata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *J Penelitian Kimia*. 14(2):314-22.
- Putra MI, , Suwanto S, Loho T, Abdullah M. (2014). Faktor risiko *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada pasien infeksi kulit dan jaringan lunak di ruang rawat inap. *J Penyakit Dalam Indonesia*.; 1(1):248-53.
- Sudarmi K, Darmayasya IBG, Muksin IK. (2017). Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzgium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Simbiosis*. 5(2):47-51.
- Suryani N, Nurjanah D, Indriatmoko DD. (2019). Aktiitas antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Etlingera elatio* (Jack) R.M.Sm.) on dental plaque bacteria *Streptococcus mutans*. *J Kartika Kimia*. 2(1):23-9.
- Tagousop CN, Tamokou JD, Kengne IC, Ngnokam D, Nazabadioko LV. (2018). Antimicrobial activities of saponins from *Melanthea elliptica* and their synergistic effects with antibiotics against pathogenic phenotypes. *Chemistry Central Journal*. 12(97):2-9.
- Ventola CL. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *A Peer- Reviewed Journal for Formulary Management*. 4(40):277-83.
- WHO. (2014). *Antimicrobial resistance, bulletin of the world health organization*. 61: 383-94.
- Yuliati. (2017). Uji aktivitas larutan madu sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode disk diffusion. *J Profesi Medika*. 11(1):7-15.