

Perbandingan Parameter Standar dan Aktivitas Antibakteri Madu Manuka Dan Madu Rahmi dengan Metode Difusi Agar

¹Rantika Sandra S, ²Diar Herawati, ³Bertha Rusdi

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

e-mail: ¹rantikasandra@gmail.com, ²diarmunawar@gmail.com,

³bertha_rusdi@yahoo.com

Abstrak. Dalam penelitian ini dibandingkan kualitas Madu Manuka dan Madu Rahmi menggunakan parameter standar dan aktivitas antibakteri. Parameter yang diuji dalam penelitian ini meliputi uji organoleptis, uji keasaman, uji kadar air dan indeks bias. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) dan bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode difusi agar dan pengujian potensi antibakteri dengan menggunakan pembanding kloramfenikol dan tetrasiklin HCl. Hasil yang diperoleh Madu Manuka dan Madu Rahmi memenuhi persyaratan organoleptis, sedangkan untuk keasaman, indeks bias dan kadar air tidak memenuhi persyaratan yang ditentukan SNI dan US Standar. Hasil uji KHM Madu Manuka dan Madu Rahmi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil uji potensi Madu Manuka terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setara dengan 9958,598 ppm kloramfenikol, sedangkan hasil uji potensi Madu Manuka setara dengan 36,2 ppm tetrasiklin HCl. Hasil uji potensi Madu Manuka dan Madu Rahmi terhadap bakteri *Bacillus subtilis* setara dengan 7449,624 ppm dan 15162,164 ppm kloramfenikol, sedangkan hasil uji potensi Madu Manuka dan Madu Rahmi setara dengan 341 ppm dan 430,4 ppm tetrasiklin HCl. Dan hasil uji potensi Madu Rahmi terhadap bakteri *Escherichia coli* setara dengan 14837,3 ppm kloramfenikol, sedangkan hasil uji potensi Madu Rahmi setara dengan 1977,3 ppm tetrasiklin HCl.

Kata Kunci : Antibakteri, Madu Manuka, Madu Rahmi, Kloramfenikol, Tetrasiklin HCl

A. Pendahuluan

Madu umumnya memiliki rasa yang manis, nilai gizi yang tinggi dan sangat berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit. Madu dapat dikonsumsi oleh anak-anak, orang dewasa ataupun manula. Karena madu memiliki banyak khasiat, maka madu dapat digunakan bukan hanya sebagai makanan saja, tetapi madu dapat digunakan sebagai tujuan pengobatan (Suranto, Adji, 2004 :2). Terdapat berbagai jenis madu, jenis-jenis tersebut mempengaruhi khasiat dari madu. Madu diberi nama sesuai dengan asal makanan lebah yang memproduksinya (Suranto, Adji, 2004 :39).

Madu memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri yang berada di rumah sakit, dimana bakteri tersebut telah resisten terhadap antibiotik (Vit, Patricia. dkk., 2013 :502). Banyaknya penyakit infeksi dapat diobati dengan madu, seperti infeksi yang disebabkan oleh fungi *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* dan *Trichosporon spp* (Nedret Koc, Ayşe. dkk., 2011); infeksi bakteri oleh *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* (Estevinho, Leticia. dkk., 2008 :3774 - 3779); infeksi bakteri MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistensi Metisilin) pada pasien atau orang-orang yang sering berada di Rumah Sakit. Maka dapat disimpulkan bahwa madu memiliki efek antimikroba khususnya antibakteri.

Banyak penelitian mengenai Madu Manuka, dimana madu tersebut memiliki kandungan Methylglyoxal, yaitu suatu senyawa turunan Hidrogen Peroksida yang memiliki efek antibakteri (Rai, Mahendra. Kon, Kateryna, 2013 :5). Madu Manuka diklaim oleh produsen dapat digunakan sebagai antibakteri berbagai jenis bakteri yang

menyebabkan infeksi. Sementara di daerah Parongpong, Jawa Barat terdapat peternakan lebah madu yang produk madunya diberi nama Madu Rahmi. Madu Rahmi tersebut diklaim oleh produsen dipanen saat enzim diastase dan enzim invertase yang terkandung pada madu tersebut sedang tinggi, sehingga diharapkan aktivitas antibakterinya cukup baik.

Berdasarkan hal di atas dilakukan penelitian mengenai uji potensi antibakteri pada Madu Manuka dan Madu Rahmi yang dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol dan tetrasiklin HCl. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Keempat bakteri tersebut digunakan untuk parameter uji antibakteri patogen (United States Pharmacopeial Convention, 2013 :81). Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar, dengan melihat diameter hambat mikroba yang dihasilkan madu dan antibiotik pada media agar (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995 :891).

Tujuan dari penelitian ini untuk membandingkan parameter standar Madu Manuka dan Madu Rahmi serta menghitung potensi antibakteri kedua madu tersebut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol dan tetrasiklin HCl. Penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri Madu Manuka dan Madu Rahmi, serta diharapkan madu dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif terhadap penyakit infeksi.

B. Landasan Teori

Madu merupakan cairan manis yang diproduksi oleh lebah *Apis mellifera* dari nektar yang diambil dari bunga ataupun tanaman lain. Warna, aroma dan kekentalannya tergantung pada nektar bunga yang digunakan untuk makanannya (Codex Alimentarius, 2001). Nektar merupakan cairan kental yang memiliki rasa manis dan aroma yang khas terdapat pada bunga atau pepohonan tertentu. Nektar dikumpulkan lebah pekerja dengan cara menghisapnya menggunakan mulut dan *eksofagus*, masuk ke perut di dalam abdomen. Sebagian air yang terkandung dalam nektar diserap sel-sel dinding perut lebah dan dibuang melalui pipa *malfigi* dan poros usus. Bersama air dibuang asam oksalat dan turunannya, beberapa garam mineral dan berbagai zat organik. Dimana dalam zat organik tersebut mengandung aroma khas madu. Sisa dari nektar yang dibawa ke sarang lebah akan diubah oleh lebah lain dengan bantuan air liurnya menjadi madu (Crane, Eva, 1979). Madu memiliki kandungan air, fruktosa, glukosa, sukrosa, asam, protein, mineral, alkohol, koloid, vitamin, enzim peroksidase, diastase, lipase, glukosa oksidase dan amilase (Cheputis, Lynne, 2008 :34).

Madu Manuka merupakan madu yang berasal dari tanaman Manuka (*Leptospermum scoparium*) yang terdapat di daerah Selandia Baru yang nektarnya diambil oleh lebah *Apis mellifera*. Madu Manuka memiliki keunggulan dibandingkan dengan madu lainnya, karena madu ini memiliki efek antibakteri (Allen K.L. dkk., 1991). Madu Manuka mengandung senyawa Methylglyoxal yang berkhasiat sebagai antibakteri (Altman, Nathanael, 2010 :83). Sedangkan Madu Rahmi merupakan madu yang diambil dari hutan di daerah Lembang. Madu Rahmi dihasilkan dari lebah jenis *Apis dorsata*, *Apis cerena* dan *Trigona sp.* *Apis dorsata* dan *Apis cerena* merupakan lebah yang berbahaya karena dapat menyengat, sedangkan lebah *Trigona sp* tidak menyengat. *Trigona sp.* merupakan lebah yang tidak berbahaya. Lebah *Trigona sp.* menghasilkan madu lebih sedikit dibandingkan dengan lebah *Apis*. Memiliki ukuran badan lebih kecil dibandingkan lebah *Apis* (Duncan Michener, Charles, 1974 :214).

Peternakan lebah ini memiliki pola peternakan lebah yang terevaluasi dengan baik karena pada saat proses pemanenan, aktivitas enzim diastase dan enzim invertase diduga cukup tinggi.

C. Hasil Penelitian

Analisis parameter standar mengacu pada SNI 3545:2013 tentang madu. Tetapi untuk pengujian organoleptis warna tidak tercantum pada SNI, melainkan tercantum pada *United States Standards for Grades of Extracted Honey*.

Parameter	Standar	Jenis Madu			
		Madu Manuka		Madu Rahmi	
		I	II	I	II
Bau	Khas madu	Khas madu	Khas madu	Khas madu	Khas Madu
Rasa	Khas madu	Khas madu	Khas madu	Khas madu, sedikit asam	Khas Madu, sedikit asam
Warna	Bening - hitam	Coklat madu	Coklat madu	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman
Kekerasan (ml N NaOH / g)	maks 50	65,421	52,083	92,465	57,097
Indeks Bias	1,4740 - 1,5044		1,491		1,456
Kadar Air (%)	15 - 25		18,2		> 25

Gambar 1. Hasil Pengujian Parameter Standar Madu Manuka dan Madu Rahmi

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah suatu pengujian yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil suatu bahan yang diujikan terhadap bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pengujian dapat dilihat dari terbentuknya zona bening pada media agar yang ditumbuhi bakteri. Pada pengujian KHM ini digunakan metode difusi agar cakram kertas. Cakram kertas tersebut telah direndam dengan madu dengan konsentrasi 10, 30, 50, 70, 90 dan konsentrasi tanpa pengenceran yaitu konsentrasi 100 % b/v.

Bakteri	Kadar Minimum Madu Terhadap Bakteri Uji (% b/v)	
	Madu Manuka	Madu Rahmi
<i>S.aureus</i>	90	100
<i>B.subtilis</i>	90	50
<i>E.coli</i>	-	90
<i>P.aeruginosa</i>	50	30

Gambar 2. KHM Madu Manuka dan Madu Rahmi

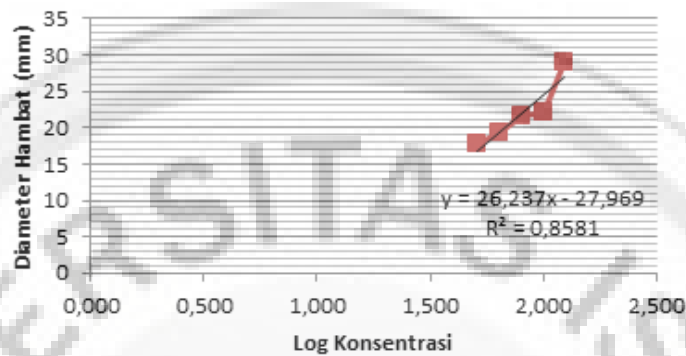
Uji potensi antibakteri Madu Manuka dan Madu Rahmi dilakukan dengan metode difusi agar seperti pada pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Pengujian dilakukan terhadap tiga bakteri patogen, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*. Digunakan antibiotik pembanding tetrasiklin HCl dan kloramfenikol, untuk mengetahui perbandingan nilai potensi Madu Manuka dan Madu Rahmi terhadap kedua antibiotik tersebut. Aras yang digunakan untuk pengujian ini adalah 5+1, yaitu terdapat 5 konsentrasi antibiotik pembanding dan satu konsentrasi uji. Konsentrasi antibiotik pembanding yang digunakan didapat dari orientasi konsentrasi pembanding dan konsentrasi uji yang digunakan didapat dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Dari hasil Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan madu mana saja yang akan digunakan untuk pengujian potensi antibakteri.

Uji potensi antibakteri yang pertama dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan antibiotik pembanding kloramfenikol dan Madu Manuka. Konsentrasi S3 kloramfenikol yang digunakan adalah 80 ppm dengan konsentrasi Madu Manuka 90% b/v.

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh nilai potensi Madu Manuka terhadap kloramfenikol dosis tengah 80 ppm sebesar 9958,598 ppm.

No	Diameter Hambat (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S1	S3	S2	S3	S4	S3	S5	S3	M	S3
1	15,7	19,4	21,9	23	23	23	25,5	21,6	23,2	21,5
2	15,6	19,6	20	23,6	24	23	26	20	24,7	21,4
Rata-rata	15,65	19,5	20,95	23,3	23,5	23	25,25	20,8	23,95	21,45

Gambar 3. Diameter Hambat Madu Manuka dan kloramfenikol dengan bakteri *Staphylococcus aureus*

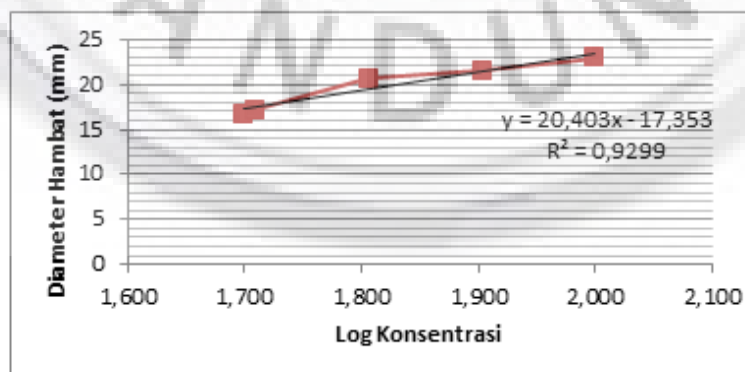


Gambar 4. Gambar Kurva Baku Kloramfenikol Terhadap Diameter Hambat *Staphylococcus aureus*

Uji potensi antibakteri yang kedua dilakukan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan antibiotik pembanding kloramfenikol dan Madu Manuka serta Madu Rahmi. Konsentrasi S3 kloramfenikol yang digunakan adalah 64 ppm dengan konsentrasi Madu Manuka 90% b/v dan Madu Rahmi 50% b/v.

No	Diameter Hambat (mm)											
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5		Petri 6	
	S1	S3	S2	S3	S4	S3	S5	S3	M	S3	R	S3
1	17,1	21	17	20	21,2	21,7	25,5	23,3	23,2	22,2	24,6	17
2	18,1	22	17	21	21,6	19,3	25,6	23,3	22	20,3	25	17,3
Rata-rata	17,6	21,5	17	20,5	21,4	20,5	25,55	23,3	22,6	21,25	24,8	17,15

Gambar 5. Diameter Hambat Madu Manuka, Madu Rahmi dan Kloramfenikol dengan bakteri *Bacillus subtilis*



Gambar 6. Gambar Kurva Baku Kloramfenikol Terhadap Diameter Hambat *Bacillus subtilis*

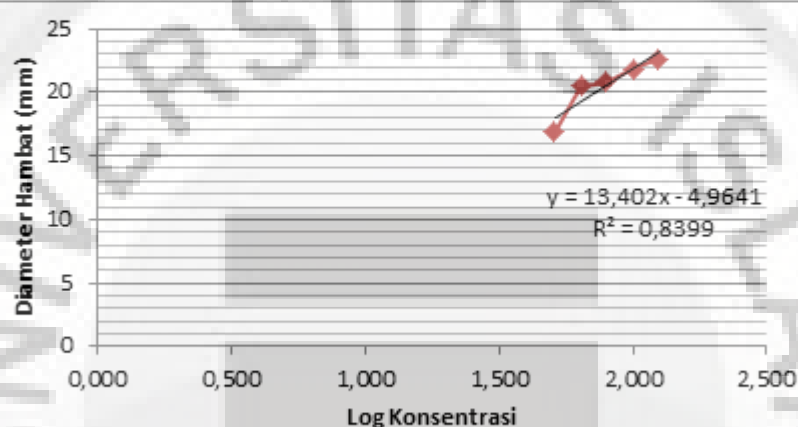
Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh nilai potensi Madu Manuka terhadap kloramfenikol dosis tengah 64 ppm sebesar 7449,624 ppm sedangkan

untuk nilai potensi Madu Rahmi terhadap kloramfenikol dosis tengah 64 ppm sebesar 15162,164 ppm.

Uji potensi antibakteri yang ketiga dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan antibiotik pembanding kloramfenikol dan Madu Rahmi. Konsentrasi S3 kloramfenikol yang digunakan adalah 80 ppm dengan konsentrasi Madu Rahmi 90% b/v.

No	Diameter Hambat (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S1	S3	S2	S3	S4	S3	S5	S3	R	S3
1	18,5	22,1	19	19,1	22	20	21,4	20,2	25	21,3
2	18,4	22,7	19	19,4	21,6	21,3	22,7	20,2	25	21,5
Rata-rata	18,45	22,4	19	19,25	21,8	20,65	22,05	20,2	25	21,4

Gambar 7. Diameter Hambat Madu Rahmi dan kloramfenikol dengan bakteri *Escherichia coli*



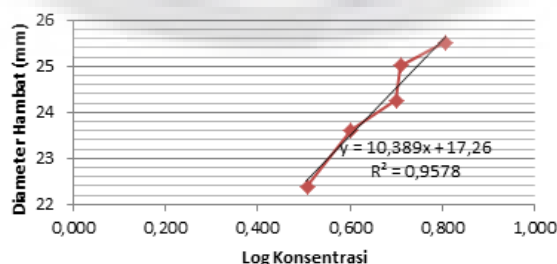
Gambar 8. Gambar Kurva Baku Kloramfenikol Terhadap Diameter Hambat *Escherichia coli*

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh nilai potensi Madu Rahmi terhadap kloramfenikol dosis tengah 80 ppm sebesar 14837,3 ppm.

Uji potensi antibakteri yang keempat dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan antibiotik pembanding tetrasiklin HCl dan Madu Manuka. Konsentrasi S3 tetrasiklin HCl yang digunakan adalah 5 ppm dengan konsentrasi Madu Manuka 90% b/v.

No	Diameter Hambat (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S1	S3	S2	S3	S4	S3	S5	S3	M	S3
1	22	24,3	23,7	24,1	25	24,5	26,4	24,5	22,2	24
2	22,6	24	23,1	24	25,3	24,2	25,6	25	22,1	24
Rata-rata	22,3	24,15	23,4	24,05	25,1	24,35	26	24,75	22,15	24

Gambar 9. Diameter Hambat Madu Manuka dan tetrasiklin HCl dengan bakteri *Staphylococcus aureus*



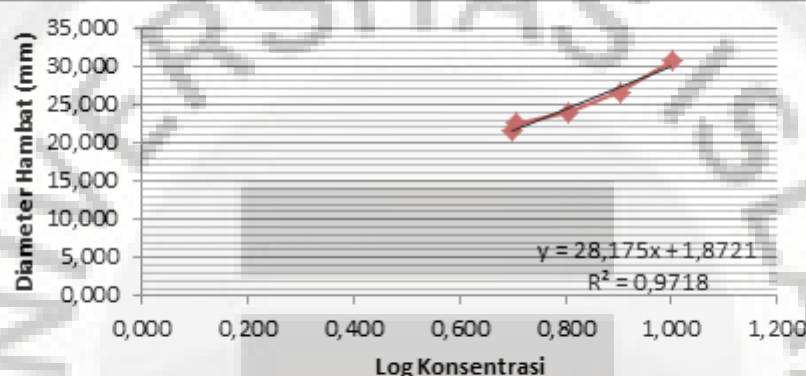
Gambar 10. Gambar Kurva Baku tetrasiklin HCl Terhadap Diameter Hambat *Staphylococcus aureus*

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh nilai potensi Madu Manuka terhadap tetrasiklin HCl dosis tengah 5 ppm sebesar 36,2 ppm.

Uji potensi antibakteri yang kelima dilakukan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan antibiotik pembanding tetrasiklin HCl dan Madu Manuka serta Madu Rahmi. Konsentrasi S3 tetrasiklin HCl yang digunakan adalah 6,4 ppm dengan konsentrasi Madu Manuka 90% b/v dan Madu Rahmi 50% b/v.

No	Diameter Hambat (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S1	S3	S2	S3	S4	S3	S5	S3	M	S3
1	21	23,7	23	24	27,7	28	30	23	18	25,7
2	21,4	23,8	22,7	23	27,3	28	29,2	23	18,2	25,9
Rata-rata	21,2	23,75	22,85	24,5	27,5	28	29,6	23	18,1	25,8

Gambar 11. Diameter Hambat Madu Manuka, Madu Rahmi dan tetrasiklin HCl dengan bakteri *Bacillus subtilis*



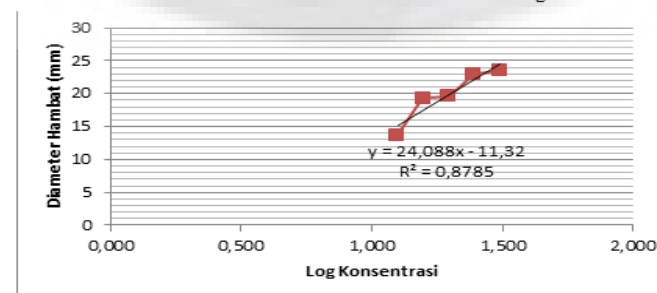
Gambar 12. Gambar Kurva Baku tetrasiklin HCl Terhadap Diameter Hambat *Bacillus subtilis*

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh nilai potensi Madu Manuka terhadap tetrasiklin HCl dosis tengah 6,4 ppm sebesar 341 ppm sedangkan untuk nilai potensi Madu Rahmi terhadap tetrasiklin HCl dosis tengah 6,4 ppm sebesar 430,4 ppm.

Uji potensi antibakteri yang keenam dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan antibiotik pembanding tetrasiklin HCl dan Madu Rahmi. Konsentrasi S3 tetrasiklin HCl yang digunakan adalah 19,7 ppm dengan konsentrasi Madu Rahmi 90% b/v.

No	Diameter Hambat (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S1	S2	S2	S3	S4	S3	S5	S3	R	S3
1	12,8	18,5	18,5	17,7	20	17	25,7	22,4	22,5	22,2
2	12,8	18,4	18	19,3	21	17	25,7	21,2	20	22,2
Rata-rata	12,85	18,45	18,25	18,5	20,5	17	25,7	21,8	22,25	22,2

Gambar 13. Diameter Hambat Madu Rahmi dan tetrasiklin HCl dengan bakteri *Escherichia coli*



Gambar 14. Gambar Kurva Baku tetrasiklin HCl Terhadap Diameter Hambat *Escherichia coli*

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh nilai potensi Madu Rahmi terhadap tetrasiklin HCl dosis tengah 19,7 ppm sebesar 1977,3 ppm.

D. Kesimpulan

Madu Manuka dan Madu Rahmi memenuhi persyaratan organoleptis bau, rasa dan warna yang ditentukan oleh SNI dan *United States Standards for Grades of Extracted Honey*. Madu Manuka dan Madu Rahmi tidak memenuhi persyaratan keasaman karena memiliki keasaman diatas standar SNI. Madu Manuka memiliki indeks bias dan kadar air yang memenuhi persyaratan, sementara untuk Madu Rahmi tidak memenuhi persyaratan indeks bias dan kadar air SNI. Hasil uji potensi antibiotik kloramfenikol dan Madu Manuka dengan bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh nilai kesetaraan yaitu 9958,598 ppm. Hasil uji potensi antibiotik kloramfenikol dan Madu Manuka dengan bakteri *Bacillus subtilis* diperoleh nilai kesetaraan yaitu 7449,624 ppm, sedangkan nilai kesetaraan Madu Rahmi yaitu 15162,164 ppm. Hasil uji potensi antibiotik kloramfenikol dan Madu Rahmi dengan bakteri *Escherichia coli* diperoleh nilai kesetaraan yaitu 14837,3 ppm. Hasil uji potensi antibiotik tetrasiklin HCl dan Madu Manuka dengan bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh nilai kesetaraan yaitu 36,2 ppm. Hasil uji potensi antibiotik tetrasiklin HCl dan Madu Manuka dengan bakteri *Bacillus subtilis* diperoleh nilai kesetaraan yaitu 341 ppm, sedangkan nilai kesetaraan Madu Rahmi yaitu 430,4 ppm. Hasil uji potensi antibiotik tetrasiklin HCl dan Madu Rahmi dengan bakteri *Escherichia coli* diperoleh nilai kesetaraan yaitu 1977,3 ppm.

Daftar pustaka

- Allen K.L. dkk. (1991). A Survey of The Antibacterial Activity of Some New Zealand Honeys. USA : *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43: 817-822.
- Altman, Nathanael. (2010). *The Honey Prescription: The Amazing Power of Honey as Medicine*. New York : Inner Traditions / Bear & Co : 83.
- Cheputis, Lynne. (2008). *Healing Honey: A Natural Remedy for Better Health and Wellness*. USA : Universal-Publishers : 34.
- Codex Alimentarius. (2001). *Draft Revised Standard for Honey*. Alinorm 01/25 19-26.
- Crane, Eva. (1979). *Honey :A Comprehensive Survey*. London.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan. : 891-898.
- Duncan Michener, Charles. (1974). *The Social Behavior of the Bees: A Comparative Study*. USA : Harvard University Press :214.
- Estevinho, Leticia. dkk. (2008). Antioxidant and Antimicrobial Effects of Phenolic Compounds Extracts of Northeast Portugal Honey. *Food and Chemical Toxicology Volume 46, Issue 12* : 3774 - 3779.
- Nedret Koc, Ayşe. dkk. (2011). Antifungal Activity of The Honeybee Products Against *Candida* spp. and *Trichosporon* spp. *Journal of Medicinal Food*. USA.
- Rai, Mahendra. Kon, Kateryna. (2013). *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential oils and Their Components*. UK : Academic Press : 5.
- Suranto, Adji. (2004). *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. Depok : AgroMedia : 2, 39 .
- United States Pharmacopeial Convention. (2013). *USP36 NF31, 2013: U. S. Pharmacopoeia National Formulary, Volume 1*. USA : United States Pharmacopeial : 81.