

SKRIPSI

**PERBANDINGAN DAYA ANTIBAKTERIAL ANTARA LIMA
MACAM MADU DARI BERBAGAI NEKTAR BUNGA
DENGAN OKSITETRASIKLIN TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**



Oleh :

HAMIDAH

Jember – Jawa Timur

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

**PERBANDINGAN DAYA ANTIBAKTERIAL ANTARA LIMA
MACAM MADU DARI BERBAGAI NEKTAR BUNGA
DENGAN OKSITETRASIKLIN TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**

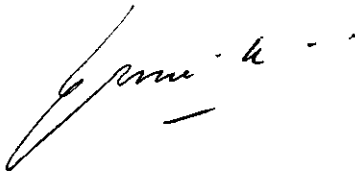
**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga**

Oleh :

HAMIDAH
069812517

Menyetujui,

Komisi Pembimbing :



Erni Rosilawati Sabar Iman, drh., M.S
Pembimbing Pertama



Rr. Ratih Ratnasari, drh., S.U.
Pembimbing Kedua

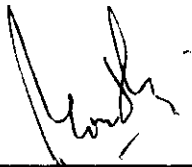
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat
Bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi
untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN

Menyetujui,

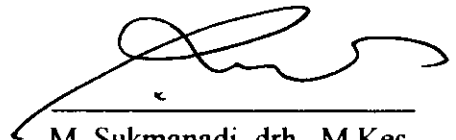
Panitia penguji



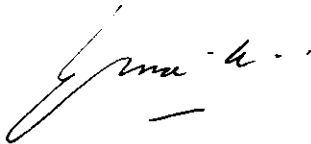
Didik Handijatno, drh., M.S.



Nove Hidajati, drh., M.Kes.
Sekretaris



M. Sukmanadi, drh., M.Kes.
Anggota



Erni Rosilawati S.I., drh., M.S.
Anggota



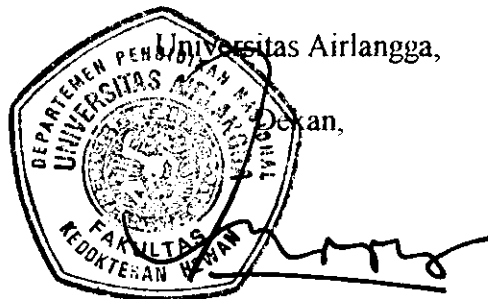
Rr. Ratih Ratnasari, drh., S.U.
Anggota

Surabaya, 21 Oktober 2003

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga,

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, drh., M.S.
NIP. 130687297

**PERBANDINGAN DAYA ANTIBAKTERIAL ANTARA LIMA
MACAM MADU DARI BERBAGAI NEKTAR BUNGA DENGAN
OKSITETRASIKLIN TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA IN VITRO**

HAMIDAH

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan membandingkan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji kepekaan metode dilusi yang telah dimodifikasi untuk menentukan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC). Konsentrasi lima macam madu dan oksitetrasiklin yang digunakan adalah 10 % - 100 %. Inokulat yang digunakan yaitu bakteri standar *American Type Culture Collection* (ATCC) *Staphylococcus aureus* 25923 dan disesuaikan dengan standar Mac. Farland no.1.

Peubah yang diamati adalah konsentrasi terendah lima macam madu dan oksitetrasiklin yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* (MBC). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terbagi menjadi enam perlakuan dan enam kali ulangan. Data hasil penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda (Duncan) jika menunjukkan pengaruh yang sangat nyata.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keenam perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ($P \leq 0,01$) dan dari uji jarak berganda (Duncan) didapatkan bahwa daya antibakterial madu sono, madu randu, madu lengkung dan madu rambutan berbeda nyata dengan oksitetrasiklin sedangkan madu kopi tidak berbeda nyata dengan oksitetrasiklin, dengan demikian efektifitas madu kopi sama dengan oksitetrasiklin.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi mengenai “Perbandingan Daya Antibakterial Lima Macam Madu Dari Berbagai Nektar Bunga Dengan Oksitetrasiklin Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro”.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Erni Rosilawati, M.S., Drh., selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Ratih Ratnasari, S.U., Drh., selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta pikiran memberikan saran, membimbing, dan mengarahkan penelitian ini.

Terima kasih kepada Bapak Dr. Ismudiono, M.S., Drh., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta seluruh staf pengajar yang telah memberikan bekal ilmu yang sangat berharga. Demikian pula kepada Bapak Didik Handijatno, M.S., Drh., selaku kepala Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, terima kasih atas bantuan fasilitas dan ijin yang diberikan.

Kepada Ayahanda dan Ibunda tersayang, yang selalu memberikan dukungan, motivasi, bimbingan dan do'a yang tiada henti-hentinya, juga kepada adikku Ufa, Mas Farid, dan Mas Njir (atas cinta, sayang dan do'a yang diberikan), penulis haturkan terimakasih yang tak terhingga. Demikian juga kepada Keluarga Paman Jalalludin dan Tante Mur, penulis sampaikan terima kasih atas dukungan dan do'anya selama ini.

Kepada rekan satu kelompok penelitian, Dwi, Amanda, penulis sampaikan terima kasih atas kerja sama yang terjalin sebelum, selama dan sesudah penelitian berakhir. Kepada rekan-rekan sealmamater, khususnya angkatan '98, teman kos-kosan dan teman terbaikku Novi, yang telah memberikan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung juga penulis sampaikan terimakasih.

Akhirnya disadari sepenuhnya, bahwa penyusunan tulisan ilmiah ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna karena sebagai manusia biasa penulis tak luput dari kesalahan dan kealpaan, maka kritik dan saran yang bermanfaat sangat diperlukan guna penyempurnaan penulisan skripsi. Penulis berharap semoga tulisan ilmiah ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya, khususnya bagi dunia kedokteran hewan.

Surabaya, Juni 2003

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.5. Landasan Teori.....	4
1.6. Hipotesis.....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tinjauan Tentang Madu.....	7
2.1.1. Klasifikasi Lebah Penghasil Madu.....	7
2.1.2. Proses Lebah Menghasilkan Madu.....	8
2.1.3. Manfaat Madu.....	8
2.1.4. Kandungan Madu	9
2.1.5. Zat Antibakterial Madu.....	10
2.2. Tinjauan Tentang Oksitetrasiklin	11
2.2.1. Sejarah Antibiotika Oksitetrasiklin.....	11

2.2.2.	Sifat Fisik dan Kimia.....	12
2.2.3.	Mekanisme Kerja Obat.....	12
2.3.	Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.2.4.	Etiologi.....	13
2.2.5.	Morfologi.....	13
2.2.6.	Pembiakan.....	13
2.2.7.	Sifat Biokimia.....	14
2.2.8.	Resistensi.....	15
2.2.9.	Struktur Antigenik, Toksin, dan Enzim.....	16
2.2.10.	Patogenitas dan Gejala Klinis.....	17
2.2.11.	Pengendalian dan Pengobatan.....	18
BAB III.	MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	20
3.1.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.2.	Materi Penelitian.....	20
3.3.	Metode Penelitian.....	21
3.3.1.	Persiapan Penelitian.....	21
3.3.2.	Pelaksanaan Penelitian.....	23
3.3.3.	Peubah yang Diarnati.....	24
3.3.4.	Rancangan Penelitian dan Analisis Data.....	24
BAB IV.	HASIL PENELITIAN.....	25
BAB V.	PEMBAHASAN.....	27
BAB VI.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	33

RINGKASAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Rata-rata Pengamatan MBC Terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Akibat Pemberian Lima Macam Madu dari Berbagai Nektar Bunga dengan Oksitetrasiklin	25
--	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pengamatan MBC lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin	39
Lampiran 2. Pengolahan data MBC lima macam madu dari berbagai nektar buinga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> secara in vitro.....	40
Lampiran 3. Sidik ragam.....	41
Lampiran 4. Uji jarak berganda (Duncan) MBC lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara in vitro.....	42
Lampiran 5. Pemetaan notasi	43
Lampiran 6. Media yang digunakan dalam penelitian.....	44
Lampiran 7. Bahan penelitian	45
Lampiran 8. Hasil pengamatan <i>Minimal Bactericidal Concentration</i> (MBC)....	46
Lampiran 9. Skema penelitian.....	48

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Jumlah penduduk yang semakin meningkat seiring dengan peningkatan pendapatan dan kesejahteraan masyarakat, secara tidak langsung akan menyebabkan perubahan pola konsumsi dari bahan makanan yang berasal dari nabati ke bahan asal hewani. Untuk memenuhi kebutuhan protein hewani tersebut, pemerintah berusaha meningkatkan produksi telur, daging dan susu. Dalam rangka usaha pemenuhan kebutuhan protein hewani tersebut, masalah kesehatan ternak secara umum mutlak harus diperhatikan. Salah satu penyakit yang dapat menyerang ternak adalah Staphylococcosis yang disebabkan oleh *Staphylococcus*.

Staphylococcus aureus adalah salah satu anggota genus *Staphylococcus*, kuman ini secara umum dapat ditemukan pada kulit dan selaput lendir atau mukosa. Kuman ini merupakan kuman patogen yang bersifat invasif, dapat menyerang hewan dengan kejadian penyakit dalam bentuk akut, kronis dan yang dapat disertai kejadian septikemia. Infeksi kuman ini pada hewan dapat menyebabkan mastitis, pustular dermatitis, dan abses (Merchant and Parker, 1971). Faktor ekonomi merupakan salah satu faktor yang berperan dalam keberhasilan peternakan namun tidak menutup kemungkinan terhadap faktor lain yang sangat menentukan yaitu penanggulangan penyakit. Agen penyakit yang menyerang ternak dapat berupa virus, bakteri, parasit, dan jamur. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang telah banyak menimbulkan masalah dalam klinik. Bakteri

tersebut sering menimbulkan pioderma pada anjing dan kucing, mastitis pada sapi yang sangat merugikan peternak serta cepat menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik sehingga menyulitkan dalam hal pengobatannya. (Jawetz *et al.*, 1980).

Beberapa obat antibiotik yang sering digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan *Staphylococcus aureus* antara lain adalah tetrasiklin (Ratnasari dkk., 1993). Oksitetrasiklin termasuk dalam tetrasiklin yang merupakan suatu golongan besar obat antibiotika dengan suatu struktur dasar dan aktivitas yang hampir mirip antara satu dengan lainnya dan berspektrum luas (Katzung, 1989).

Penggunaan antibiotika saat ini sering disalahgunakan, sehingga tidak memberikan hasil yang optimal dan memuaskan sebab penyalahgunaan antibiotika mengandung resiko antara lain terjadinya reaksi toksik, timbulnya mutan-mutan mikroorganisme yang resisten (Wattimena dkk., 1991). Tindakan pengobatan dengan menggunakan obat-obat tradisional merupakan alternatif lain yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah-masalah yang timbul dalam penggunaan antibiotika.

Meskipun saat ini jangkauan pelayanan kesehatan telah sampai ke pedesaan, akan tetapi kenyataannya pelayanan kesehatan ini belum dinikmati sepenuhnya oleh kalangan masyarakat. Oleh karena itu pemerintah mengambil kebijaksanaan agar upaya pengobatan tradisional perlu dimanfaatkan sebaik-baiknya, dibina dan dikembangkan agar lebih berdaya guna dan berhasil guna (Soenardi, 1989; Wibisono, 1989).

Madu mempunyai potensi untuk pengobatan tradisional. Pengobatan tradisional dengan madu lebah telah dilakukan manusia kurang lebih 250 tahun yang lalu. Hipocrates berhasil menemukan madu sebagai penyembuh luka. Kemanjuran madu saat

itu sama dengan kemanjuran penisilin saat ini (Sumoprastowo, 1993). Madu mencegah pertumbuhan mikroba seperti *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, dan *V. cholerae* yang menyebabkan diare. Dalam percobaan madu sebagai zat antibakterial, kadar gulanya dihilangkan. Ternyata madu tanpa gula sama efektifnya seperti *streptomisin*, sehingga masih dapat mematikan bakteri (Sarwono, 2001).

Mutu madu sangat tergantung dari bunga penghasil madu. Dilihat dari jenis tanaman bunga yang menjadi sumber pakan lebah, ada beberapa jenis madu bunga, diantaranya : Madu sembung, madu randu, madu durian, madu jeruk, madu kopi, dan yang lainnya (Sarwono, 2001). Semua madu dari berbagai nektar bunga mengandung zat antibakterial yang sama meskipun komposisinya berbeda karena zat-zat yang terkandung dalam madu dipengaruhi oleh sumber yaitu jenis tanaman-tanaman lebah darimana nektar itu diambilnya. Karena komposisinya berbeda kemungkinan daya antibakterial madu dari berbagai nektar bunga juga berbeda (Socrodjotanojo, 1980). Berdasarkan hal tersebut di atas, maka penulis mencoba meneliti daya antibakterial madu dari berbagai nektar bunga dengan antibiotika oksitetrasiklin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai salah satu penyebab penyakit infeksi luka pada kulit.

1.2. Perumusan Masalah

1. Apakah lima macam madu dari berbagai nektar bunga dan oksitetrasiklin berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Apakah terdapat perbedaan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Pengaruh lima macam madu dari berbagai nektar bunga dan *oksitetrasiklin* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.
2. Membandingkan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan *oksitetrasiklin* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4. Manfaat Penelitian.

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan obat-obat tradisional, dalam hal ini madu yang berkhasiat terbaik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.5. Landasan Teori

Mutu madu sangat tergantung dari bunga penghasil madu. Dilihat dari jenis tanaman bunga yang menjadi sumber pakan lebah, ada beberapa jenis madu bunga, di antaranya : Madu sembung, madu randu, madu durian, madu jeruk, madu kopi, dan yang lainnya (Sarwono, 2001).

Madu mengandung bermacam-macam zat, tergantung daripada macam nektar, faktor-faktor yang mempengaruhi komposisi nektar adalah sumber yaitu jenis tanaman-tanaman lebah darimana nektar itu diambilnya (Sunoprastowo, 1980; Soerodjotanojo, 1980).

Nektar adalah suatu zat yang kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar nektarifer dalam bentuk larutan gula dengan konsentrasi variable. Konsentrasi nektar variasinya sangat luas, diantara 50 – 70 % atau lebih, tergantung dari kelembaban udara, tanah, spesifik tumbuh-tumbuhan dan faktor-faktor lain. Konsentrasi yang paling disukai oleh lebah madu ialah sekitar 50 % (Soerodjotanojo, 1980).

Zat-zat yang terkandung dalam madu menunjukkan bahwa madu memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat bakteri. Zat-zat tersebut mempunyai beberapa mekanisme pertahanan terhadap bakteri. Aktivitas antibakterial yang dimiliki madu, yaitu tingkat keasaman, tekanan osmosis dan *inhibine*. Aktivitas tersebut dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri (Morse, 1980; Winarno, 1981).

Derajat keasaman madu yang bersifat alkalis dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Morse, 1980), sedangkan tingginya tekanan osmosis madu mengakibatkan mikroorganisme yang memasuki larutan tersebut akan mengalami

dehidrasi. Dehidrasi yang terus menerus akan membunuh bakteri karena cairan intinya terserap keluar sehingga bakteri menjadi kering (Morse, 1980; Kustantiny, 1992). Hasil penelitian Wooton, dkk (1978) seperti dikutip oleh Winarno (1981) telah membuktikan bahwa daya antibakterial madu diakibatkan oleh adanya *inhibine* yang memiliki aktivitas antibakteri , *Inhibine* merupakan akumulasi H_2O_2 yang dihasilkan oleh aktivitas enzim glukosa oksidase. H_2O_2 ini bersifat toksik pada sel bakteri karena dapat mengoksidasi gugus 5 – H pada sel bakteri (Hans, 1994).

Madu mencegah pertumbuhan mikroba seperti *Salmonella*, *Shigella*, *E. Coli*, dan *V. Cholerae* yang menyebabkan diare. Dalam percobaan madu sebagai zat antibakterial, kadar gulanya dihilangkan. Ternyata madu tanpa gula sama efektifnya seperti *streptomisin*, sehingga dapat mematikan bakteri (Sarwono, 2001).

1.5. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka hipotesis yang dapat diambil adalah sebagai berikut :

1. Madu dari berbagai nektar bunga dan oksitetrasiklin berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat perbedaan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Madu.

2.1.1. Klasifikasi lebah penghasil energi

Pada dasarnya, madu adalah zat manis alami yang dihasilkan lebah dengan bahan baku nektar bunga. Nektar adalah senyawa kompleks yang dihasilkan kelenjar tanaman dalam bentuk larutan gula.

Klasifikasi lebah penghasil madu sebagai berikut :

- Phylum : Arthropoda (Binatang beruas-ruas)
- Subphylum : Mandibulata
- Klass : Insekta (Serangga)
- Subklass : Pterygota
- Ordo : Hymenoptera
- Subordo : Clitogastra
- Superfamili : Apoidea
- Famili : Apidae
- Genus : Apis
- Spesies : *Apis mellifera* (Sarwono, 2001)

2.1.2. Proses lebah menghasilkan madu

Dalam pengolahannya, nektar bunga dicampur dengan enzim (Air liur) yang dihasilkan glandula thoracus. Setelah proses pengolahannya rampung, madu yang dihasilkan itu disimpan didalam sel-sel sarang yang merupakan depot penyimpanan cadangan pakan unik. Sel sarang penyimpanan madu itu ditutup rapat dengan lilin untuk mencegah kerusakan isinya (Sarwono, 2001).

Nektar diisap oleh lebah, masuk ke dalam perut lebah. Nektar tersebut akan dikeluarkan lagi setelah sampai disarang lalu dikunyah-kunyah dan akhirnya disimpan dalam sel agar masak, kemudian ditutup. Pemasakan ini terjadi karena kerja enzim *Invertase*, manipulasi lebah, isapan air oleh dinding perut lebah madu, dan penguapan karena kipasan lebah. Enzim tersebut berasal dari nektar dan dari lebah. Enzim ini mengubah sukrosa menjadi dekstrosa dan levulosa (Sumoprastowo, 1980).

2.1.3. Manfaat madu

Pengobatan dengan madu telah dikenal orang mesir kuno sejak 2600 SM. Madu digunakan sebagai salep antiseptik untuk mengobati oleh bangsa Yunani, Romawi, Assyria, dan Cina kuno. Bangsa Jerman pun memakainya ketika perang dunia II. Madu dipakai karena memiliki kelebihan-kelebihan sebagai berikut :

- Madu merupakan suplemen makanan yang baik.
- Madu mencegah terjadinya peragian dalam saluran pencernaan, dan kandungan gizinya cepat diserap tubuh.
- Madu mengandung elemen-elemen penting untuk membentuk darah baru.

- Madu memiliki efek laksatif sehingga mencegah rasa mual.
- Madu bertindak sebagai sedatif sehingga dapat menyebabkan tidur nyenyak.
- Madu tidak perlu dicerna terlebih dahulu dalam tubuh manusia karena sudah dulu dicerna dalam pencernaan lebah ketika masih berupa nektar (Sarwono, 2001).

Pemaparan manfaat madu untuk pengobatan secara ilmiah, pertama kali dicanangkan pada tahun 1901 dalam *International Congress of Physiologist*. Berkat madu seekor binatang berdarah panas yang diambil jantungnya kemudian diberi glukosa 0,1 pct yang dicampur garam hasilnya diketahui bahwa jantung tersebut masih sanggup berdenyut selama empat hari, selain itu dilaporkan juga bahwa komposisi kimia dan biologis madu dapat dipergunakan sebagai obat penyakit hati (Murtidjo, 1991).

2.1.4. Kandungan madu

Madu mengandung bermacam zat, tergantung daripada : macam nektar, sifat tanah dimana tanaman itu hidup, cuaca, derajat pemasakan, dan cara ekstraksi. Menurut Francis G. Smith madu yang telah masak mengandung zat-zat sebagai berikut :

- | | |
|--------------------------------------|------|
| • Levulosa (Fruktosa) | 41,0 |
| • Dekstrosa (Glukosa) | 35,0 |
| • Sukrosa | 1,9 |
| • Dekstrin | 1,5 |
| • Mineral | 0,2 |
| • Zat-zat lain yang belum ditentukan | 3,4 |
| • Air | 17,0 |

Mineral yang terkandung didalam madu yang terpenting ialah :

Na, Ca, Mg, Cu, Al, Mn, Fe, K, dan P. Imbangan dan banyaknya mineral tersebut mendekati jumlah yang terkandung dalam darah manusia (Sumoprastowo, 1980).

Berbagai macam vitamin juga terdapat dalam madu, yang larut dalam air maupun dalam lemak, di antaranya ialah vitamin B₁, B₂, B₃, Be, H, K, C, asam pantotenat dan asam-asam tumbuhan lainnya (Warisno, 1996; Sumoprastowo, 1980).

Kadar gula dan tingkat keasaman dalam madu dari nektar bunga kopi sangat tinggi dibandingkan dengan madu dari nektar bunga lainnya. Hal ini karena nektar bunga kopi mengandung asam klorogenat ester dari asam kafeat sehingga larutan gula dan tingkat keasamannya sangat tinggi (Suwarno, 2001; Harbone, 1987).

2.1.4. Zat Antibakterial Madu

Zat-zat yang terkandung dalam madu menunjukkan bahwa madu memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat bakteri. Aktivitas antibakterial yang dimiliki madu, yaitu tingkat keasaman, tekanan osmosis dan *inhibine*. Aktivitas tersebut dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri (Morse, 1980; Winarno, 1981).

Suasana alkalis dapat mencegah pertumbuhan bakteri (Morse, 1980) sedangkan tingginya tekanan osmosis madu mengakibatkan mikroba yang memasuki larutan tersebut mengalami dehidrasi. Dehidrasi yang terus menerus akan membunuh bakteri karena cairan intinya terserap keluar sehingga bakteri menjadi kering (Morse, 1980; Kustantiny, 1992).

Sifat lain dari madu adalah adanya *inhibine* yang juga dikenal dengan nama *lyzosome* (Winarno, 1981). *Inhibine* diperoleh dari penambahan enzim glukosa oksidase kedalam madu oleh lebah pekerja. Enzim glukosa oksidase dapat membebaskan dan menimbulkan akumulasi hidrogen peroksida (H_2O_2). Berbagai bakteri ternyata sangat peka terhadap *inhibine* terutama bakteri Gram negatif sedangkan hidrogen peroksida telah dikenal sebagai senyawa yang efektif membunuh mikroba (Morse, 1980). Menurut ~~Menurut~~ Triwibowo (1996) mengemukakan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi madu yang digunakan maka cemaran mikroba makin sedikit karena kecepatan pemusnahan mikroba secara langsung berhubungan dengan konsentrasi madu. Madu dengan konsentrasi lebih tinggi akan meningkatkan jumlah mikroba yang mati dalam waktu singkat.

2.2. Tinjauan Tentang Oksitetrasiklin

2.2.1. Sejarah Antibiotika Oksitetrasiklin

Oksitetrasiklin adalah antibiotika golongan tetrasiklin yang diisolasi dari jamur *streptomyces rimosus* di perkenalkan pertama kali pada tahun 1950. Oksitetrasiklin termasuk dalam tetrasiklin yang merupakan suatu golongan besar obat antibiotika dengan suatu struktur dasar dan aktifitas yang hampir mirip antara satu dengan lainnya (Katzung, 1989).

2.2.2. Sifat Fisik dan Kimia

Setiap golongan oksitetrasiklin, klortetrasiklin dan dioksisiklin mempunyai struktur kimia yang hampir mirip satu dengan lainnya. Nama resmi oksitetrasiklin HCl

adalah Oksitetraciclini Hidrokloridum, sedangkan nama kimianya 4- dimetilamino-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-Oktahidro-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi - 6 -metil- 1, 11-dicksonaftasena - 2 - karboksamida hidroklorida. Rumus kimianya adalah sebagai berikut : $C_{22}H_{24}N_2O_9HCl$ (Alfonso and Alfred, 1970).

Oksitetrasiklin hidroklorida berbentuk serbuk hablur berwarna kuning, tidak berbau, pahit dan higroskopis. Di dalam larutan dengan pH 2 – 5 pada temperatur $25^{\circ}C$ obat ini stabil. Dalam larutan pH kurang dari 2 potensinya turun, mudah rusak oleh pengaruh alkali hidroksida. Pada tempat yang tidak terlindung dari sinar matahari atau pada temperatur di atas $90^{\circ}C$ dalam udara yang lembab warnanya berubah menjadi gelap (Setia Budi, 1980; Martindale, 1989 ; Jawetz *et al.*, 1995).

2.2.3. Mekanisme Kerja Obat

Golongan tetrasiklin bekerja dengan menghambat sintesis protein dengan jalan mengikatkan diri pada ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks t-RNA asam amino pada lokasi asam amino (Katzung, 1989).

2.3. Tinjauan tentang *Staphylococcus aureus*

2.3.1. Etiologi

Bakteri ini ditemukan pertama kali oleh Ogston (1831) dinamakan *Micrococci*, baru pada tahun 1957 menurut Bergey's ditetapkan sebagai *Staphylococcus aureus*. Genus *Staphylococcus* lebih kurang terdiri dari 30 spesies, tiga spesies utama dalam klinik adalah *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus* bersifat koagulase negatif dan kadang-kadang menyebabkan infeksi pada hewan dan manusia (Merchant and Packer, 1971; Jawetz *et al.*, 1986).

2.3.2. Morfologi

Staphylococcus berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1 um, tersusun dalam kelompok yang bergerombol, tunggal, berpasangan. Pada umumnya bakteri muda bersifat Gram positif, namun bila semakin tua bisa berubah menjadi Gram negatif, hal ini dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* pada umur tua kehilangan sebagian besar dinding sel yang mengalami lisis. Bakteri ini tidak motil, tidak membentuk spora serta tidak berkapsul (Jawetz *et al.*, 1986).

2.3.3. Pemiakan

Staphylococcus tumbuh cepat pada media dalam keadaan aerobik atau fakultatif anaerob. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37^o C serta pH optimum adalah 7,2 dapat tumbuh dalam udara yang mengandung 20-30 % CO₂, mencairkan gelatin,

memfermentasi sejumlah karbohidrat menjadi asam serta dapat tumbuh baik pada media padat.

Staphylococcus aureus pada media padat koloni berbentuk bulat, tepinya rata, permukaan halus, mengkilat, sedikit cembung, warna koloni kuning keemasan. Dalam media kaldu daging, pertumbuhannya ditandai dengan adanya endapan berwarna putih seperti serbuk yang melekat di bagian dasar tabung. Untuk mengisolasi kuman *Staphylococcus aureus* digunakan media selektif yang mengandung NaCl dengan konsentrasi yang cukup tinggi seperti *Manitol Salt Agar* (MSA) (Merchant and Packer, 1971; Ratnasari dkk., 1993).

2.3.4. Sifat Biokimia

Staphylococcus aureus membentuk asam tanpa gas dari glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa, gliserol dan manitol. Tidak dapat menguraikan salisin, raffinosa atau inulin. Tidak membentuk indol, membentuk NH_3 , reaksi terhadap *Voges Proskauer* positif, reaksi terhadap *Methilen Red* positif, mereduksi *Methilen Blue*, mereduksi nitrat menjadi nitrit, membentuk gas H_2S , mencairkan gelatin dan mengkoagulasi serum darah, uji katalase positif, uji koagulase positif karena dapat menggumpalkan plasma oksalat dan sitrat, menghemolisis darah dengan membentuk daerah sempit pada media agar darah (Merchant and Packer, 1971).

2.3.5. Resistensi

Staphylococcus relatif tahan terhadap pengeringan, panas (bakteri ini tahan pada suhu 50° C selama 30 menit) serta NaCl 9 %, tetapi pertumbuhannya mudah dihambat oleh beberapa zat kimia tertentu seperti *hexachlorophene* 3%. Kuman lain pada suhu 60° C dalam 30 menit sudah mati sedangkan *Staphylococcus aureus* mati pada suhu 80° C selama 30 menit. *Staphylococcus* lebih tahan terhadap desinfektan dari kebanyakan kuman kecuali yang berspora. Gentian violet 1 : 25.000 dapat mematikan *Staphylococcus* setelah 5 –10 menit. *Staphylococcus* dapat juga terbunuh dalam larutan Formaldehid 10% selama 10 menit, phenol 2% selama 15 menit, HgCl₂ 0,5% selama 1 jam (Merchant and packer, 1971; Ratnasari dkk., 1993).

Pengaruh obat-obat seperti penisilin, *Staphylococcus* dilisiskan. *Staphylococcus* peka terhadap vankomisin dan sensitif terhadap antibiotika penisilin, tetrasiklin dan sebagainya, tetapi juga resisten. Resistensi ini disebabkan *Staphylococcus* membentuk enzim penisilinase. Mekanisme terjadinya resistensi : (1) Produksi betalaktamase di bawah kontrol plasmid yang menyebabkan resistensi terhadap penisilin. (2) Mekanisme resistensi terhadap nafsilin dikaitkan dengan tidak ada tercapainya protein pengikat penisilin atau penisilin binding protein site (PBPS) pada organisme itu menyebabkan bakteri resisten terhadap nafsilin, methisilin, dan oksasilin. (3) “Toleransi” berarti bahwa obat dapat menghambat tetapi tidak mematikan *Staphylococcus aureus*, yang disebabkan karena tidak adanya proses aktivasi enzim autolitik dalam dinding sel. (4) Adanya plasmid dengan proses konjugasi dan transduksi, yang membawa gen resisten terhadap tetrasiklin, eritromisin, aminoglikosida (Jawets *et al.*, 1996).

2.3.6. Struktur Antigenik, Toksin, dan Enzim

Bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai kemampuan untuk membentuk toksin, dimana mikroorganisme secara umum memegang peranan penting untuk menyebabkan penyakit. Biasanya toksin ini dibagi menjadi dua yaitu eksotoksin dan endotoksin. Eksotoksin adalah toksin yang diproduksi oleh bakteri hidup yang dikeluarkan dari tubuhnya ke sekelilingnya oleh mikroorganisme Gram positif dan beberapa bakteri Gram negatif. Sedangkan endotoksin adalah toksin yang merupakan himpunan dari dinding sel mikroorganisme Gram negatif dan dibebaskan ke tempat sekeliling setelah bakteri mengalami autolisis. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang ganas dalam metabolismenya menghasilkan autolisis dan beberapa zat yang dapat menimbulkan gangguan yang disebut toksin, yang terdiri dari:

- a. Lethal toksin, mempunyai sifat mematikan, bila diinokulasikan pada hewan coba marmut dalam waktu 3 – 15 menit akan terjadi kegelisahan, nafas tidak teratur, kelumpuhan kaki belakang dan akhirnya mati.
- b. Haemotoksin, menyebabkan lisisnya eritrosit pada plat agar darah atau pada suspensi eritrosit.
- c. Enterotoksin, terutama pada manusia menyebabkan gastroenteritis, penderita merasa mual, pusing, muntah-muntah dan diare tetapi tidak mematikan.
- d. Leucocidin, mempunyai sifat mematikan leukosit (Jawetz *et al.*, 1986).

Staphylococcus aureus mempunyai antigen yang berupa polisakarida dan protein yang merupakan substansi penting dinding sel, asam teikopat (asam yang mengandung sejumlah besar D-alanin yang biasanya melekat pada posisi dua atau tiga dari gliserol

atau posisi tiga atau empat dari ribitol) yang merupakan polimer dari gliserol bergabung dengan peptidoglikan bersifat antigenik. Antibodi antiteikoat dapat dideteksi dengan *gel diffusion* pada pasien endokarditis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* mempunyai kapsul yang menghambat fagositosis oleh polymorphonuclear dengan cara mengganggu proses opsonisasi dengan syarat tidak ada antibodi spesifik (Jawetz *et al.*, 1980).

Beberapa enzim yang dihasilkan oleh bakteri ini antara lain katalase, koagulase, hialuronidase, stafilokinase, proteinase, lipase, dan beta-laktamase. Enzim koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* menyebabkan koagulasi plasma melalui aktivasi yang dipengaruhi oleh *thrombin like material*, koagulasi thrombin mengubah fibrinogen menjadi fibrin, dan dari penelitian diketahui bahwa hal tersebut diikuti dengan berkumpulnya sel-sel bakteri yang menyebabkan hambatan pada proses fagositosis. Sedangkan enzim hialuronidase memudahkan *Staphylococcus* untuk masuk pada jaringan. Enzim tersebut dihasilkan oleh strain yang patogen (*Staphylococcus aureus*) maupun yang non patogen seperti *Staphylococcus epidermidis* dan *Shylococcus citreus* (Jawetz *et al.*, 1980).

2.3.7. Patogenitas dan Gejala Klinis

Menurut Jawetz (1980), infeksi lokal *Staphylococcus aureus* berupa infeksi folikel rambut, dan abses. Infeksi terlokalisasi mengalami reaksi peradangan yang ditunjukkan dengan supurasi pada pusat luka dan kesembuhan terjadi ketika nanah telah kering. Dinding fibrin dan sel-sel di sekitar pusat luka mencegah penyebaran organisme.

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat diakibatkan oleh kontaminasi pada luka sebagai contoh keracunan makanan karena enterotoksin mempunyai karakteristik masa inkubasi yang pendek (1 sampai dengan 8 jam), mual yang parah, vomit, diare dan segera akan membaik serta tidak terjadi demam.

Peradangan setempat merupakan sifat khas dari infeksi *Staphylococcus aureus*. Dari pusat ini menyebar ke bagian tubuh yang lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah sehingga dapat terjadi peradangan vena dan trombus (Volk, 1992; Warsa, 1993).

2.3.8. Pengendalian dan Pengobatan

Pengendalian yang baik untuk menghadapi *Staphylococcus aureus* adalah melalui pencegahan yaitu sanitasi. Hal ini berdasarkan pada berbagai eksperimen mengenai kekebalan terhadap *Staphylococcus aureus* telah dilakukan pada manusia dan hewan berupa formoltoksin, toksoid, ataupun adjuvant sel toksoid vaksin, namun tidak memberikan hasil yang baik.

Abses dan lesi bernanah diobati dengan tindakan yang sangat penting yaitu dengan drainase dan terapi antimikroba. Pengobatan dengan antibiotik tidak selalu memberikan hasil yang baik karena banyak strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik (Jawets *et al.*, 1986). Bakteri ini biasanya peka terhadap penisilin yang resisten terhadap betalaktamase, sefalosporin atau vankomisin. Vankomisin masih merupakan obat paling efektif untuk *Staphylococcus*. Vankomisin sering dicadangkan untuk *Staphylococcus* yang resisten terhadap nafsilin. Jika infeksi disebabkan oleh

Staphylococcus aureus yang tidak menghasilkan betalaktamase, penisilin G merupakan obat pilihan, tetapi hanya sedikit strain *Staphylococcus aureus* yang peka terhadap penisilin G. Beberapa obat antibiotika yang sering digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan *Staphylococcus aureus* antara lain adalah tetrasiklin, kombinasi penisilin dan streptomisin, kombinasi penisilin dan nitrofurazone dan kombinasi penisilin dan tylosin (Ratnasari dkk., 1993).

BAB 3

METODE PENELITIAN

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian secara *in vitro* tentang perbandingan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya selama 2 minggu dimulai pada tanggal 6 Januari sampai dengan 15 Januari 2003.

3.2. Materi Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC (American Type Culture Collection) nomor 25923 yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya – Departemen Kesehatan Surabaya. Adapun media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media pertumbuhan bakteri yaitu *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan media untuk sensitivitasnya dipakai media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Madu yang digunakan adalah madu murni dari nektar bunga sono yang berasal dari Telaga Madu “Supriyono“, Dinas Kehutanan, Jl. Raya Kejayan no. 69 Pasuruan, madu murni dari nektar bunga kopi dan nektar bunga randu berasal dari Peternakan Lebah- kecamatan Mumbulsari- Jember, dan madu murni dari nektar bunga rambutan dan nektar bunga lengkung berasal dari Peternakan Lebah, Kediri.

Oksitetrasiklin injeksi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan produksi dari PT. Indo Farma –Bekasi Indonesia.

Alat yang digunakan adalah Cawan petri, tabung reaksi beserta raknya, pembakar bunsen, inkubator, ose, gelas ukur, dan pipet pasteur, timbangan sartorius, vortek, santrifuge, mikropipet, erlenmeyer, mikroskop, kapas, dan autoclave.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan uji sensitivitas metode dilusi yang telah dimodifikasi dengan penentuan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*).

3.3.1. Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Peralatan Penelitian.

Sebelum penelitian dilaksanakan, seluruh peralatan yang akan digunakan disterilisasi dengan menggunakan autoclave, sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C , tekanan 15 atm selama 15 menit.

b. Pembuktian *Staphylococcus aureus*.

Lima buah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari isolat murni, diambil dengan ose steril dan di tanam pada media MSA dengan cara goresan (streak), kemudian di inkubasi pada suhu 37° selama 24 jam. Hasil pertumbuhan bakteri pada media MSA berbentuk bulat, mengkilat dan berwarna kekuningan koloni hasil dari pupukan dilanjutkan dengan pengujian

koagulase, katalase dan pewarnaan Gram untuk pemeriksaan di bawah mikroskop.

Pada pewarnaan Gram akan terlihat bulat bergerombol seperti buah anggur berwarna ungu. Uji Katalase akan bereaksi positif yang menunjukkan adanya enzim katalase. Uji ini membedakan *Staphylococcus aureus* yang bereaksi positif (+) dengan *Streptococcus* yang bereaksi negatif (-). Uji Katalase bereaksi positif apabila terbentuk gelembung-gelembung gas, uji koagulase digunakan untuk menunjukkan kemampuan bakteri menggumpalkan plasma darah kelinci dengan enzim koagulase. Uji ini untuk membedakan *Staphylococcus aureus* yang positif (menggumpalkan plasma darah kelinci) dengan *Staphylococcus epidermidis* yang negatif (tidak menggumpalkan plasma darah kelinci).

Apabila pada pengujian pembuktian ternyata hasilnya *Staphylococcus aureus*, yaitu koagulase, katalase, dan pewarnaan Gram menunjukkan hasil positif, maka koloni hasil pupukan MSA ini digunakan untuk suspensi bakteri.

c. Pembuatan Suspensi Bakteri.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu koloni bakteri hasil pupukan MSA, kemudian di pupuk kembali pada media MSA dan diinkubasi selama 18 jam dengan suhu 37⁰ C. Koloni hasil pupukan diambil sebanyak 4 koloni dan di suspensikan dengan 1 ml BHI, dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 5 jam. Selanjutnya ditambahkan Na Cl fisiologis sampai terbentuk kekeruhan yang sesuai dengan standar Mac. Farland no.1, dimana

jumlahnya sama dengan 3×10^8 CFU (Coloni Forming Unit) (Bailey and Scoot, 1986).

d. Pengenceran Oksitetrasiklin

Antibiotika oksitetrasiklin diencerkan menggunakan aquadest steril. Caranya mula-mula diambil sebanyak 5 ml oksitetrasiklin, tanpa ditambah dengan aquadest yang dianggap sebagai konsentrasi 100 % untuk selanjutnya pengenceran dimulai untuk konsentrasi 90 % adalah 4,5 ml oksitertasiklin + 0,5 ml aquadest, konsentrasi 80 % adalah 4 ml oksitetrasiklin + 1 ml aquadest, konsentrasi 70 % adalah 3,5 ml oksitetrasiklin + 1,5 ml aquadest, konsentrasi 60 % adalah 3 ml oksitetrasiklin + 2 ml aquadest, konsentrasi 50 % adalah 2,5 ml oksitetrasiklin + 2,5 ml aquadest, konsentrasi 40 % adalah 2 ml oksitetrasiklin + 3 ml aquadest, konsentrasi 30 % adalah 1,5 ml oksitetrasiklin + 3,5 ml aquadest, konsentrasi 20 % adalah 1 ml oksitetrasiklin + 4 ml aquadest, konsentrasi 10 % adalah 0,5 ml oksitetrasiklin + 4,5 ml aquadest.

Cara pengenceran diatas juga berlaku bagi lima macam madu dari berbagai nektar bunga yang diulang sebanyak enam kali.

3.3.2. Pelaksanaan Penelitian

a. Menentukan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) Oksitetrasiklin.

Suspensi bakteri yang telah disesuaikan dengan standar Mac. Farland no.1 diambil 1ml, masing-masing dimasukkan dalam sepuluh tabung reaksi yang telah berisi pengenceran oksitetrasiklin yang dibuat konsentrasi dari 10%

sampai 100% masing-masing sebanyak 1 ml. Kemudian semua tabung diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

Setelah diinkubasi, dari masing-masing tabung diambil 0,02 ml dengan menggunakan mikropipet kemudian di tanam dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA), setelah itu semua media yang telah di tanami diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Hasil yang diamati berupa konsentrasi terendah yang sudah tidak didapatkan adanya pertumbuhan bakteri atau MBC (Bailey and Scoot, 1986).

Cara perlakuan di atas juga berlaku bagi perlakuan lima macam madu dari berbagai nekar bunga yang diulang sebanyak enam kali.

3.3.3. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati pada penelitian secara *in vitro*, perbandingan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi terendah yang sudah tidak didapatkan lagi adanya pertumbuhan bakteri (MBC) pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

3.3.4. Rancangan Penelitian dan Analisis data

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL), kemudian diuji dengan analisis sidik ragam (ANAVA). Apabila terdapat pengaruh yang sangat nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda (Duncan) (Kusrieningrum, 1989).

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari hasil penelitian tentang “ Perbandingan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* strain 25923 secara in vitro “ Dengan ulangan sebanyak enam kali adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil rata-rata pengamatan MBC terhadap *Staphylococcus aureus* akibat pemberian lima macam madu dari berbagai nektar bunga dan oksitetrasiklin.

Perlakuan	% tidak terjadi pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>
P ₁	41,67 ^{ab}
P ₂	21,67 ^{dc}
P ₃	36,67 ^{abc}
P ₄	30 ^{bcd}
P ₅	46,67 ^a
P ₆	10 ^c

Keterangan :

- P₁ = Perlakuan madu randu
- P₂ = Perlakuan madu kopi
- P₃ = Perlakuan madu lengkung
- P₄ = Perlakuan madu rambutan
- P₅ = Perlakuan madu sono
- P₆ = Perlakuan oksitetrasiklin

Tabel 1. menunjukkan bahwa lima madu dari berbagai nektar bunga dan oksitetrasiklin mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan besar kemampuan yang berbeda. Pada perlakuan P₁ (Madu randu) mempunyai kemampuan membunuh bakteri pada konsentrasi minimal rata-rata 46,67 %, perlakuan P₂ (Madu kopi) adalah 21,67 %, perlakuan P₃ (Madu lengkung) adalah 36,67 %, perlakuan P₄ (Madu rambutan) adalah 30 %, perlakuan P₅ (Madu sono) adalah 46,67 %, dan perlakuan P₆ (oksitetrasiklin) adalah 10 %.

Hasil analisis sidik ragam (ANAVA) menunjukkan bahwa F (hitung) = 16,295 lebih besar daripada F (tabel) 1% = 3,70. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan lima macam madu dari berbagai nektar bunga dan oksitetrasiklin memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Setelah dilanjutkan dengan perhitungan uji jarak berganda (Duncan) menunjukkan bahwa daya antibakterial perlakuan P₅ (Madu sono), perlakuan P₁ (Madu randu), perlakuan P₃ (Madu lengkung), dan perlakuan P₄ (Madu rambutan) berbeda nyata dengan oksitetrasiklin, sedangkan perlakuan P₂ (Madu kopi) sama dengan perlakuan P₆ (oksitetrasiklin), dengan demikian efektifitas madu kopi sama dengan oksitetrasiklin (Lampiran 4).

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian secara *in vitro* mengenai penentuan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) diketahui bahwa konsentrasi minimal rata-rata perlakuan P₅ (Madu sono) yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 46,67 %, perlakuan P₁ (Madu randu) adalah 41,67 %, perlakuan P₃ (Madu lengkung) adalah 36,67 % dan perlakuan P₄ (Madu rambutan) adalah 30 % yang menunjukkan daya antibakterial lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P₂ (Madu kopi) yang diketahui konsentrasi minimal rata-rata yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 21,67 % dan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin) adalah 10%.

Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) diperoleh hasil bahwa antara keenam perlakuan yaitu perlakuan P₁ (Madu randu), perlakuan P₂ (Madu kopi), perlakuan P₃ (Madu lengkung), perlakuan P₄ (Madu rambutan), perlakuan P₅ (Madu sono), dan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin), terdapat pengaruh yang sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* strain 25923. Kemudian dilanjutkan dengan uji jarak berganda (Duncan) diketahui bahwa daya antibakterial perlakuan P₅ (Madu sono), perlakuan P₁ (Madu randu), perlakuan P₃ (Madu lengkung) dan perlakuan P₄ (Madu rambutan) berbeda nyata dengan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin), sedangkan perlakuan P₂ (Madu kopi) tidak berbeda nyata dengan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin).

Zat-zat yang terkandung dalam madu menunjukkan bahwa madu memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat bakteri, zat-zat tersebut mempunyai beberapa

mekanisme pertahanan pada bakteri. Aktivitas antibakterial yang dimiliki madu yaitu tingkat keasaman, tekanan osmosis dan *inhibine*. Aktivitas tersebut dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri (Morse, 1980; Winarno, 1981).

Suasana alkalis dapat mencegah pertumbuhan bakteri (Morse, 1980). Sedangkan tingginya tekanan osmosis mengakibatkan mikroba yang memasuki larutan tersebut mengalami dehidrasi. Dehidrasi yang terus menerus akan membunuh bakteri karena cairan intinya akan terserap keluar sehingga bakteri menjadi kering (Morse, 1980; Kustantiny, 1992).

Sifat antibakterial yang lain disebabkan oleh adanya *inhibine*, yang diperoleh dari penambahan enzim glukosa oksidase ke dalam madu oleh lebah pekerja. Enzim ini dapat membebaskan dan menimbulkan akumulasi H_2O_2 . H_2O_2 ini sangat efektif membunuh bakteri (Morse, 1980). Hasil penelitian Wooton, dkk (1978) menyebutkan bahwa daya antibakterial yang diperoleh karena adanya *lyzosome*, yang lebih dikenal dengan nama *inhibine*. Kadar *inhibine* dalam madu sangat tergantung dari jenis, umur, dan kondisi madu. Semakin tinggi kadar *inhibine* maka semakin kuat daya antibakterialnya. *Inhibine* sangat sensitif terhadap panas, hal ini terlihat pada suhu $60^{\circ}C$ keaktifan akan hilang dalam waktu 15 menit (Winarno, 1981). *Inhibine* ini bersifat bakterisid yang bekerja dengan cara menghidrolisis Lipopolisakarida pada dinding sel bakteri (Schlegel, 1994).

Oksitetrasiklin adalah salah satu dari beberapa antibiotika yang penting dan digunakan secara luas dalam pengobatan hewan. Mekanisme kerja oksitetrasiklin dengan cara menghambat sintesis protein. Langkah pertama adalah dengan cara mengikatkan diri dengan reseptornya yang terdapat pada ribosom sub unit 30S, sehingga pada bakteri

terjadi perubahan pada sistem pengenalan ribosom yang dapat menyebabkan kesalahan pembacaan pesan oleh m-RNA, kesalahan pembacaan ini akan menyebabkan kegagalan asam amino t-RNA mengenali kodon yang sesuai. Akibat terjadinya kesalahan penyisipan asam amino ke dalam rantai peptida sehingga menghasilkan protein yang tidak berfungsi atau sintesis protein tidak terjadi karena oksitetrasiklin juga merombak susunan ribosom menjadi monosom dimana bentuk monosom ini tidak mempunyai kemampuan untuk mensintesis protein. Adanya aktivitas yang bersamaan pada gangguan mekanisme sintesis protein ini menyebabkan kematian bakteri yang bereaksi dengan oksitetrasiklin (Katzung, 1989; Ganiswarna, 1995).

Kemampuan madu dari berbagai nektar bunga dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan pada semua madu dari berbagai nektar bunga mengandung zat antibakterial yang sama meskipun komposisinya berbeda, karena zat-zat yang terkandung dalam madu dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya sumber yaitu jenis tanaman-tanaman lebah darimana nektar itu diambilnya. Nektar adalah suatu zat yang kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar nektarifer dalam bentuk larutan gula dengan konsentrasi variabel. Konsentrasinya nektar variasinya sangat luas, diantaranya 50 - 70 % atau lebih (Soerodjotanojo, 1980).

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa madu dari nektar bunga kopi tidak berbeda nyata dengan antibiotik oksitetrasiklin dan mempunyai daya bunuh yang tinggi terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan madu dari nektar bunga lainnya. Hal ini disebabkan karena nektar bunga kopi selain mengandung flavonoid dan asam-asam tumbuhan seperti nektar bunga lainnya, nektar bunga kopi juga mengandung asam

klorogenat yang dapat mempengaruhi larutan gula dan tingkat keasaman pada madu semakin meningkat (Syamsuhidayat, S.S , 1991; Goan loo, T., 1982).

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan menyerupai senyawa fenol, umumnya terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh terutama pada bagian daun dan bunga (nektar), terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid (Harbone, 1987). Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang mempunyai berbagai jenis bioaktivitas mulai yang bersifat insektisida, hormonal, antimikrobia, toksin dan lain-lain. Metabolit sekunder ini dipandang sebagai “ *Chemical messenger* “ yang artinya metabolit sekunder yang dihasilkan oleh makhluk hidup sebagai alat komunikasi dalam proses interaksi antara sesama atau masing-masing makhluk hidup, yang mempengaruhi metabolisme makhluk hidup yang bersangkutan. Dengan kata lain metabolit sekunder dapat berfungsi sebagai pengendali pertumbuhan untuk diri sendiri atau makhluk hidup lain dalam proses simbiosis, dapat sebagai penarik serangga untuk proses reproduksi dan dapat sebagai senjata kimia untuk mempertahankan diri dari makhluk lain (Syamsul Arifin, 1990). Golongan Flavonoid yang mampu berikatan dengan gugus sulfhidril dan disulfida (-SH) pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah Kuersitin flavanoid, sehingga dengan adanya ikatan tersebut menyebabkan enzim dan koenzim tidak berfungsi dan akan mempengaruhi stabilitas dinding sel bakteri (Volk, 1992; Jawet *et al.*, 1995).

Antosianin adalah golongan flavonoid yang berwarna yang terdapat dalam daun dan bunga, hampir selalu disertai oleh flavon atau flavonol tanwarna (Harbone, 1987). Karena berasal dari bunga tanaman yang berbeda-beda, warna, aroma, dan rasa madu

hasil pengentalan nektar juga berbeda-beda. Warna madu bervariasi. Ada yang putih, kuning, kecoklatan, merah kecoklatan dan ada pula yang kehitaman. Variasi warna itu sangat tergantung pada komposisi zat warna yang terkandung didalamnya. Komponen zat warna itu tergantung dari nektar bunganya (Sarwono, 2001). Menurut Warisno (1996), madu dengan warna gelap disebabkan banyak mengandung mineral terutama zat besi (Fe), Cu, dan Mn. Madu dengan warna yang lebih gelap sebagai bahan makanan akan lebih baik daripada madu dengan warna yang lebih putih. Madu dari nektar bunga kopi berwarna kecoklatan sedangkan madu dari nektar bunga lainya berwarna coklat kekuningan sampai kuning keputihan (Sarwono, 2001).

Asam Klorogenat yang terkandung dalam nektar bunga kopi merupakan ester dari asana kafeat berasal dari Fenil propanoid yang merupakan senyawa fenol alam yang berkaitan dengan pertahanan terhadap penyakit. Asam kafeat membentuk gabungan dengan gula yang disebut Kafeoil glukosa yang menyebabkan larutan gula sangat tinggi pada nektar bunga kopi sehingga madu yang dihasilkan oleh lebah konsentrasinya sangat kental sehingga menyebabkan tingginya tekanan osmosis dalam madu dibandingkan dengan madu dari nektar bunga lainnya (Harbone, 1987; Sarwono, 2001). Sedangkan tingginya tekanan osmosis madu mengakibatkan mikroba yang memasuki larutan tersebut mengalami dehidrasi. Dehidrasi yang terus-menerus akan mempercepat terbunuhnya bakteri karena cairan intinya terserap keluar sehingga bakteri menjadi kering (Morse, 1980; Kustantiny, 1992). Asam kafeat selain membentuk gabungan dengan gula juga dapat membentuk gabungan dengan asam organik yaitu asam rosmarinat atau asam kafeoil tartrat sehingga keasaman pada nektar bunga kopi semakin tinggi

dibandingkan dengan keasaman nektar bunga lainnya. Hal ini berpengaruh dalam menghancurkan sebagian besar mikroorganisme, karena keasaman yang tinggi dapat menimbulkan denaturasi protein pada mikroorganisme sehingga juga menyebabkan terhunuhnya bakteri (Harbone, 1987; Morse, 1980).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Madu dari berbagai nektar bunga dan oksitetrasiklin berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat perbedaan daya antibakterial antara madu sono, madu randu, madu lengkung, dan madu rambutan dengan oksitetrasiklin dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan madu kopi tidak berbeda nyata dengan oksitetrasiklin, dengan demikian efektifitas madu kopi sama dengan oksitetrasiklin.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan sebelumnya maka saran yang diberikan untuk penelitian lebih lanjut adalah sebagai berikut :

1. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakterial lima macam madu dari berbagai nektar bunga secara in vivo terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.
2. Melakukan penelitian serupa (In vitro) berdasarkan warna madu.
3. Melakukan penelitian lebih lanjut tentang zat-zat yang terkandung dalam madu dari berbagai nektar bunga.

RINGKASAN

HAMIDAH “ Perbandingan Daya Antibakterial Antara Lima Macam Madu Dari Berbagai Nektar Bunga Dengan Oksitetrasiklin Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro “ di bawah bimbingan Ibu Erni Rosilawati, M.S., Drh., sebagai pembimbing pertama dan Ibu Ratih Ratnasari, S.U., Drh., sebagai pembimbing kedua.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh dan membandingkan daya antibakterial antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro dengan harapan penelitian ini dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan obat-obat tradisional, dalam hal ini madu yang berkhasiat terbaik

Penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* strain *American Type Culture Collection* (ATCC) 25923. Sedangkan metode yang digunakan adalah metode dilusi yang telah dimodifikasi untuk menentukan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC). Konsentrasi lima macam madu dan oksitetrasiklin yang digunakan adalah 10% sampai 100 %. Masing-masing diambil 1ml dan masukkan 1ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah disesuaikan dengan standart Mac. Farland no.1 selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam setelah itu dilihat hasilnya. Enam perlakuan tersebut diatas diulang sebanyak enam kali.

Peubah yang diamati pada penelitian kali ini adalah konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* (MBC). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Data hasil penelitian dapat dianalisis

secara statistik dengan menggunakan sidik ragam (ANAVA) yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda (Duncan) jika menunjukkan pengaruh yang sangat nyata.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keenam perlakuan menunjukkan pengaruh yang sangat nyata dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ($P \leq 0,01$) dan dari uji jarak berganda (Duncan) didapatkan bahwa daya antibakterial perlakuan P₅ (Madu sono), perlakuan P₄ (Madu randu), perlakuan P₃ (Madu lengkung) dan perlakuan P₄ (Madu rambutan) berbeda nyata dengan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin), sedangkan perlakuan P₂ (Madu kopi) sama dengan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin). Dengan demikian efektivitas daya antibakterial perlakuan P₂ (Madu kopi) sama dengan perlakuan P₆ (Oksitetrasiklin).

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Alfonso, R. G. and N. H. Alfred. 1970. Remington's Pharma Centical Science. Mark Publishing Company. Pensylvania.
- Bailey W.R, and E.G Scoot. 1986, Diagnostik Microbiology, 7th edition, Saint Louis, The CV. Mosby Company. 176 – 177.
- Craigh, C. R. and R. E. Stitzel. 1991 . Modern Pharmacology, 3rd Ed. Little, Brown and Company London : 687 – 690.
- Freeman, B.A. 1985. Burrow,s Texk Book of Microbiology 22nd ed. WB Saunders Company, Philadelphia London. Toronto Mexico City Rio De Janeiro Sydney.
- Ganiswarna, S.G. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. Gaya Baru. Jakarta.
- Goan loo, T. 1982. Penuntun Praktis Mengelola Teh dan Kopi. Penerbit Kinta. Jakarta.
- Goodman, L.S. and A. Gilman. 1975. The Dharma Cology Basic of Therapeutics. 5th Ed. Mac Miilan Publishing, co. In, New York USA. 1183 – 1144.
- Haus, G.S. 1994. Mikrobiology Umum, Edisi ke –6. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokirnia. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Jawetz.E.J.L.. 1980. Antimicrobial Drugs, Mechanism and Factors Influencing Their ActionChap 1, in : antimicrobial Theraphy, 3nd edition, Saunders.
- Jawetz, E.J.L. Melnick and E. A. Adelberg. 1986. Edisi XVI. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan. Penerbit Buku Kedokteran E.G.C, Jakarta : 239-244.
- Katzung, B.G and Trevor, A.I. 1989, Buku Bantu Farmakologi, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, hal . 276-238, 287-289.
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perencanaan dan Rancangan Acak Lengkap Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya. 53 – 92.
- Kustantiny, A.S., I Putu., K. P. Djoko, S. Hanggari., M. Rusana dan H. Oemar. 1992. Desain Alat Penurunan Kadar Air dalam Madu. Deputi Bidang Pengembangan Kekayaan Alam, BPPT. Jakarta.

- Martindale, 1989. The Extra Pharmacopeia, 29th Ed. The Pharmaceutical Press, London : 279 – 280.
- Mashudi, P. Ketut dan S. Oding. 1998. Lebah Madu, Madu Lebah di Indonesia tahun 2000. Penerbit Pusat Apriari Pramuka. Jakarta.
- Mayes, Peter A. 1997. Edisi XXVI. Biokimia Harper. Penerbit Buku Kedokteran E.G.C. Jakarta : 656
- Merchant, I. A. and R.A. Packer. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press. Ames. Iowa. USA : 313 – 315.
- Morse, A.R. 1980. Honey Bee Pets, Predator and Disease. Comstock Publishing Associated a Pirisien of Cornell University Press. Ithaka and London.
- Murtidjo, B.A. 1991. memelihara Lebah Madu, edisi I. Kanisius, Yogyakarta.
- Prawesthirini, S. 1994. Penambahan Hidrogen Peroksida kedalam Air Susu sebagai Satu Alternatif Memperpanjang Daya Simpan. Laporan Penelitian, Lemlit – UNAIR. Surabaya.
- Ratnasari, R. Sudarno dan Suryanie, S. 1993. Diktat Ilmu Penyakit Bakterial. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sarwono, B. 2001. Lebah Madu, Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Soenardi. 1989. Bentuk-bentuk Pengobatan Tradisional di Daerah Jawa Tengah. Prosiding Lokakarya tentang Penelitian Praktek Pengobatan Tradisional. Departemen Kesehatan R.I. Ciawi.
- Saerodjtanajo, S. dan Kardjono. 1980. Peternak Lebah. Membina Usaha Industri Ternak Lebah Madu *Apis Mellifera*. Balai Pustaka. Jakarta.
- Schlegel, H. G. 1994. Mikrobiologi Umum. Edisi VI. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setia Budi, R. 1980. Golongan Tetrasiklin dan Klorampenikol. Farmakologi dan Terapi. Edisi II bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia, Jakarta : 527 -- 532.
- Sumoprastowo, R.M. dan Suprpto. R.A. 1980. Beternak Lebah Madu Modern. Bharata Karya Aksara, Jakarta.

- Syamsul Arifin, A. A., E. Hollisotan, H., Lukman, M. 1990. Flavonoid dan Phytomedika, Kegunaan dan Prospek. Phytomedika. Volume I. No. 2.
- Syamsuhidayat, S. S. dan J. R. Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1). Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Triwibowo, H. W. 1996. Konsentrasi Efektif Madu Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme dan Pengaruhnya Terhadap pH Daging. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Volk. W.A. and M.F. Wheeler. 1989. Mikrobiologi Dasar . Edisi V. Jilid I, Erlangga.
- Volk. W.A. 1992. basic Microbiology , 7th ed. Hanpar Collins Publisher Inc. New York, USA.
- Warsa, UK, Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1983. Mikrobiologi Kedokteran, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Wattimena, J.R., Sugiarto, Nelly, C., Widiyanto, M.B., Sukanto, Elly, T.M., Soemardi, Andreanus dan Setiadi. 1991. Farmakodinami dan Terapi Antibiotik. Gajah Mada University Press. Jakarta.
- Wibisono, W. 1989. Peningkatan Peranan Pengobatan Tradisional dalam Pembangunan Kesehatan. Prosiding Lokakarya tentang Penelitian Praktek Pengobatan Tadisional. Balitbang Departemen Kesehatan. Ciawi.

L
A
M
P
I
R
A
N

—

L
A
M
P
I
R
A
N

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pengamatan MBC terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* akibat pemberian lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin

Ulangan	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆
I	40	20	40	30	50	10
II	40	20	30	30	50	10
III	50	30	30	30	40	10
IV	40	30	40	30	40	10
V	40	20	40	30	50	10
VI	40	20	40	30	50	10
Total	250	130	220	180	280	60
Rata-rata	41,67	21,67	36,67	30	46,67	10

Keterangan :

P₁ : Perlakuan madu randu

P₂ : Perlakuan madu kopi

P₃ : Perlakuan madu lengkung

P₄ : Perlakuan madu rambutan

P₅ : Perlakuan madu sono

P₆ : Perlakuan oksitetrasiklin

Lampiran 2. Pengolahan data MBC lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro

$$FK = \frac{(1120)^2}{36}$$

$$= 34844,44$$

$$JKT = 42400 - 34844,44$$

$$= 7555,56$$

$$JKP = \frac{60^2 + 250^2 + 130^2 + 220^2 + 180^2 + 280^2 - 1120^2}{36}$$

$$= 5522,227$$

$$JKS = JKT - JKP$$

$$= 2033,333$$

$$KTP = \frac{JKP}{t-1}$$

$$= \frac{5522,227}{5}$$

$$= 1104,4454$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)}$$

$$= \frac{2033,333}{30}$$

$$= 67,778$$

$$F(\text{hitung}) = \frac{KTP}{KTS}$$

$$= \frac{1104,4454}{67,778}$$

$$= 16,295$$

Lampiran 3. Sidik ragam

Sumber keragaman	db	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F(hitung)	F(tabel)	F(tabel)
					0,05	0,01
Perlakuan	5	5522,227	1104,445	16,295**	2,33	3,70
Sisa	30	2033,333	67,774			
Total	35	7555,56				

Keterangan : ** Pengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$)

Kesimpulan : $F (\text{hitung}) \geq F (\text{tabel}) 0,01$ maka terdapat pengaruh yang nyata diantara perlakuan.

Keterangan :

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKS = Jumlah Kuadrat Sisa

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

KTS = Kuadrat Tengah Sisa

Lampiran 4. Uji Jarak Berganda (Duncan) MBC antara lima macam madu dari berbagai nektar bunga dengan oksitetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Perbedaan rata-rata lima macam madu dengan oksitetrasiklin berdasarkan uji jarak berganda (Duncan).

Perlakuan	Rata-rata perlakuan (\bar{x})	Beda				P	SSR	LSR	
		$\bar{x}-P_6$	$\bar{x}-P_2$	$\bar{x}-P_4$	$\bar{x}-P_3$				$\bar{x}-P_1$
P ₅	46,67 ^a	36,67*	25*	16,67*	10	5	6	4,31	14,486
P ₁	41,67 ^{nb}	31,67*	20*	11,67	5	5	5	4,25	14,284
P ₃	36,67 ^{nb}	26,67*	15*	6,67		4	4	4,17	14,015
P ₄	30 ^{bcd}	20*	8,33			3	3	4,06	13,646
P ₂	21,67 ^{dc}	11,67				2	2	3,89	13,074
P ₆	19 ^c								

$$\begin{aligned}
 s.e &= \sqrt{\frac{KTS}{n}} \\
 &= \sqrt{\frac{67,774}{6}} \\
 &= 3,361
 \end{aligned}$$

LSR = SSR x s.e

Sebagai teladan SSR perlakuan P₅ = 4,31 → LSR perlakuan P₅ =

4,31 x 3,361 = 14,486

Lampiran 5. Pemetaan Notasi

P_5 46,67	P_1 41,67	P_3 36,67	P_4 30	P_2 21,67	P_6 10
a	a	a			
	b	b	b		
		c	c		
			d	d	
				e	e

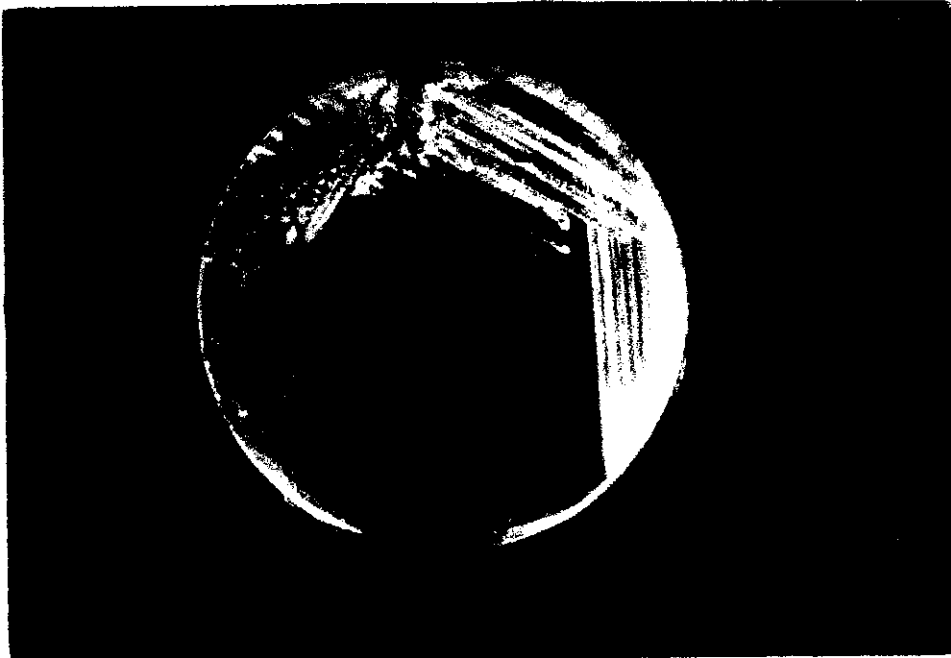
Kesimpulan : Ternyata daya antibakterial perlakuan P_5 (Madu sono), perlakuan P_1 (Madu randu) dan perlakuan P_3 (Madu lengkung) dan perlakuan P_4 (Madu rambutan) berbeda nyata dengan perlakuan P_6 (Oksitetrasiklin), Sedangkan perlakuan P_2 (Madu kopi) tidak berbeda nyata dengan perlakuan P_6 (Oksitetrasiklin).

Lampiran 6. Media yang digunakan dalam penelitian

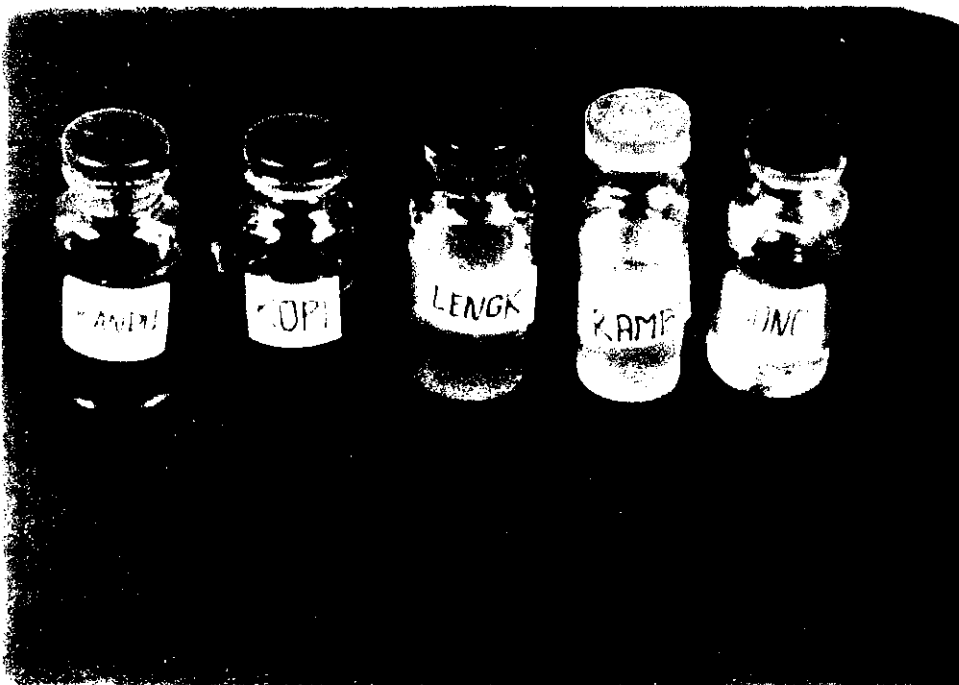
- **MHA (*Mueller Hinton Agar*)**
Komposisi : Beef infusion form 300 gram
 Acidase peptone 17,5 gram
 Starch 1,5 gram
 Agar 17 gram
- Dalam botol yang berisi *Mueller Hinton Agar*.
- **MSA (*Mannitol Salt Agar*)**
Komposisi : Lab-lemco powder 1,0 gram
 Peptone 10,0 gram
 Mannitol 10,0 gram
 Sodium chloride 75,0 gram
 Phenol red 0,025gram
 Agar 15,0 gram

Dalam satu botol yang berisi *Mannitol Salt Agar*.

Lampiran 7. Bahan penelitian

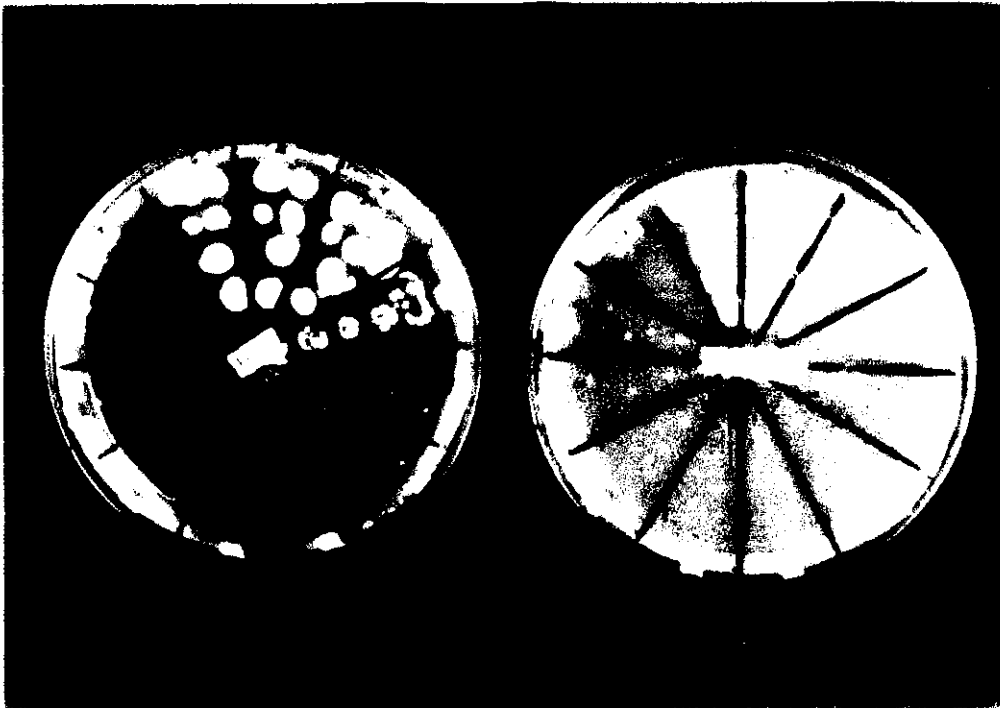


Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Manitol Salt Agar* (MSA).

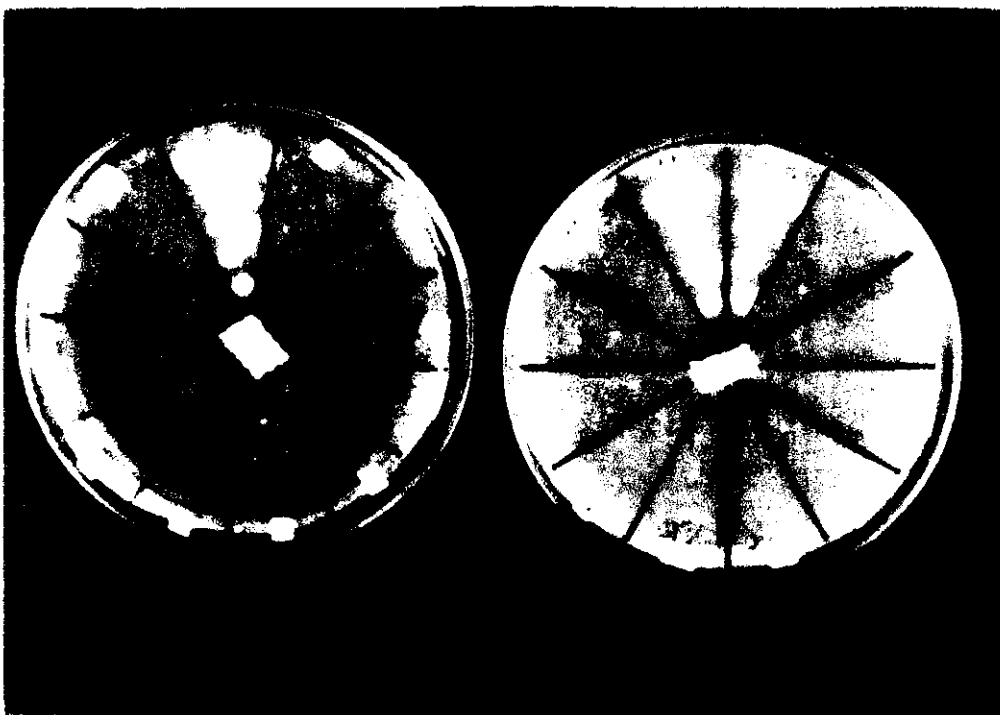


Madu murni dari lima macam nektar bunga.

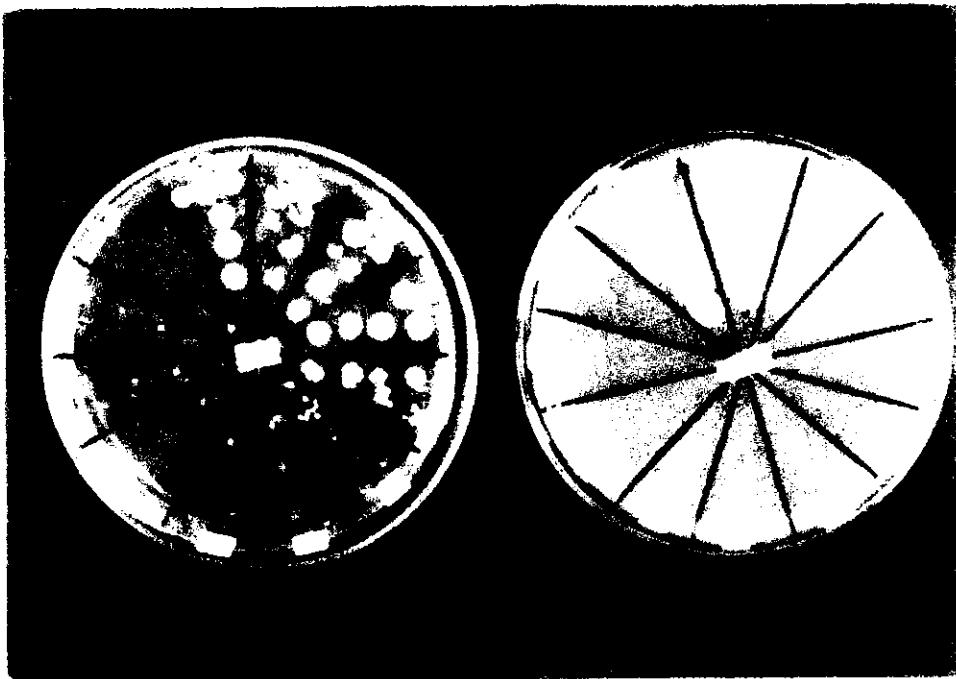
Lampiran 8. Hasil pengamatan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC).



Madu randu dan madu rambutan terhadap *Staphylococcus aureus* pada media MHA.



Madu kopi dan oksitetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* pada media MHA.



Madu lengkung dan madu sono terhadap *Staphylococcus aureus* pada media MHA.

Lampiran 4.

SKEMA KERJA PENELITIAN

