

Screening Fitokimia Dan Penetapan Potensi Madu Hutan Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri *Propinibacterium Acne* dan *Staphylococcus Aureus*

Krisyanella^{1*}, Zamharira Muslim¹, Resva Meinisasti¹, Putra Adi Irawan²

¹Diploma III Farmasi, Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Bengkulu, Bengkulu, Indonesia

²Diploma III Teknologi Laboratorium Medik, Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Bengkulu, Bengkulu, Indonesia

*E-mail: ellaunand@gmail.com

Abstrak

Madu dapat membantu menekan pertumbuhan bakteri tertentu melalui beberapa mekanisme salah satunya yaitu dari komposisi kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda berdasarkan sumber pakan nektarnya. Perbedaan tersebut diduga mempengaruhi perbedaan aktivitas madu sebagai antibakteri. Jerawat adalah peradangan yang terjadi pada kulit akibat adanya infeksi bakteri pada kelenjar minyak yang tersumbat. Bakteri yang umum menginfeksi jerawat adalah *Staphylococcus aureus* dan *Propinibacterium acne*. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri madu hutan asli Bengkulu terhadap bakteri *P.acne* dan *S. Aureus*. Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Pertama ditetapkan dulu kandungan fitokimia sampel madu, kemudian dilanjutkan dengan penetapan aktivitas antibakteri madu hutan terhadap bakteri *P. acne* dan *S. aureus*, potensi ini dilihat dari besarnya nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Sampel madu hutan memiliki kandungan metabolit sekunder. Madu A mengandung Alkaloid dan Terpenoid, Madu B mengandung terpenoid, Madu C mengandung Alkaloid, Madu D mengandung Flavonoid dan alkaloid, sementara Madu E dan F mengandung flavonoid. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri sampel madu hutan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *P.acne*, namun efek antibakteri paling baik terhadap bakteri *S.aureus*, dimana pada konsentrasi terkecil, madu masih memberikan daya hambat pada bakteri *S.aureus*. Madu hutan mengandung metabolit sekunder dan lebih berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan pada bakteri *P. acne*

Kata Kunci : Madu hutan; *Staphylococcus aureus*; *Propinibacterium acne*

Abstract

Honey can help to suppress the growth of certain bacteria through several mechanisms, one of which is the composition of different chemical compounds based on nectar feed sources. The difference is thought to affect the difference in honey activity as an antibacterial. Acne is inflammation that occurs in the skin due to a bacterial infection in the blocked oil glands. Common bacteria that infect acne are *Staphylococcus aureus* and *Propinibacterium acne*. The purpose of this study was to determine the Phytochemical Content and Antibacterial Activity Tests of Forest Honey Against Bacteria *P. acne* and *S. Aureus*. The research design used in this study was an experimental laboratory. First determined the phytochemical content of honey samples, then proceed with the determination of the antibacterial activity of forest honey against *P. acne* and *S. aureus* bacteria, this potential is seen from the magnitude of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value. Forest honey samples contain secondary metabolites. Honey A contains Alkaloids and Terpenoids, Honey B contains terpenoids, Honey C contains Alkaloids, Honey D contains Flavonoids and alkaloids, while Honey E and F contain flavonoids. From the results of testing the antibacterial activity of forest honey samples have antibacterial activity against the bacteria *P. acne* and *S. aureus*, but the best antibacterial effect on *S.aureus* bacteria, where at the smallest concentration, honey still provides inhibitory power to *S.aureus* bacteria. Forest honey contains secondary metabolites and has more potential as an antibacterial agent against *S.aureus* bacteria compared to *P. acne* bacteria.

Keywords: Forest honey, *Staphylococcus aureus*, *Propinibacterium acne*

PENDAHULUAN

Jerawat adalah kelainan kulit yang timbul secara fisiologis. Jerawat timbul pada saat kelenjar minyak pada kulit terlalu aktif,

sehingga pori-pori kulit akan tersumbat oleh timbunan lemak yang berlebihan. Apabila terjadi infeksi bakteri pada timbunan lemak tersebut maka akan terbentuk peradangan

yang dikenal dengan jerawat (Sawarkar et al., 2010).

Bakteri yang umum menginfeksi jerawat adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acne*. Bakteri ini tidak bersifat patogen pada kondisi kulit yang normal, namun akan menjadi invasif saat kondisi berubah tidak normal. Bakteri ini berperan pada proses kemotaktik inflamasi serta membentuk enzim lipolitik pengubah fraksi sebum menjadi masa padat yang kemudian menyebabkan penyumbatan pada saluran kelenjar sebaceous (Jawetz et al., 2013).

Madu dapat membantu menekan pertumbuhan bakteri tertentu melalui beberapa mekanisme yaitu kadar gula yang tinggi akan menghambat bakteri untuk hidup dan berkembang, tingkat keasaman madu yang tinggi (pH 3,65) akan mengurangi pertumbuhan dan daya hidup bakteri, sehingga bakteri akan mati, adanya senyawa radikal hidrogen peroksida (H₂O₂) yang bersifat dapat membunuh mikroorganisme patogen, dan adanya senyawa organik yang bersifat antibakteri (polifenol, flavonoid, dan glikosida). Golongan senyawa ini sering dipergunakan sebagai bahan dasar obat-obatan antibakteri modern (Fadhmi et al., 2017).

Madu memiliki komposisi kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda berdasarkan sumber pakan nektarnya. Perbedaan tersebut diduga mempengaruhi perbedaan aktivitas madu sebagai antibakteri (Parwata et al., 2010). Hal ini dibuktikan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Taormina et al., (2001) dalam Andriani et al., (2012), dimana terdapat perbedaan aktivitas anti bakteri dari sejumlah madu yang diujikan. Madu juga memiliki aktivitas yang baik terhadap bakteri salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* (Sahputra, 2014).

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai penelusuran kandungan fitokimia dan penetapan potensi madu hutan sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium Acne* dan *Staphylococcus*

Aureus.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Eksperimental laboratorium. Pertama ditetapkan dulu kandungan fitokimia sampel madu, kemudian dilanjutkan dengan penetapan aktivitas antibakteri madu hutan terhadap bakteri *P. acne* dan *S. aureus*, potensi ini dilihat dari besarnya nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas (*pyrex*[®]), pipet volume (*pyrex*[®]), cawan petri, timbangan analitik, autoklaf, oven, lamiar air flow, inkubator

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel madu hutan asli bengkulu (6 jenis), aquadest, etanol 96%, reagen analisa kandungan metabolit sekunder, Muheler Hinton Agar (Merck[®]), Antibiotik Clindamicyn (Kimia Farma[®]), biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acne*.

Prosedur kerja

Screening Fitokimia Madu Hutan

Sampel madu hutan sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol sampai semua sampel madu terendam. Madu dimaserasi selama 24 jam, selanjutnya filtrat disaring dan diuapkan pada tekanan rendah dengan suhu 60-70°C menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental (Asih et al., 2012).

1) Uji Kandungan Flavonoid

Ekstrak dipipet sebanyak 3 tetes ke dalam plat tetes. Ekstrak kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ p.a sebanyak 1 tetes. Sampel positif mengandung flavonoid jika larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah atau coklat

2) Uji Kandungan Fenolik

Ekstrak dipipet sebanyak 3 tetes ke dalam plat tetes. Ekstrak ditambahkan dengan FeCl₃ 5% sebanyak 2 tetes. Sampel positif mengandung fenolik jika terbentuk warna hijau, hitam kebiruan atau hitam yang kuat

3) Uji Kandungan Steroid dan Terpenoid

Pengujian dilakukan dengan reaksi Lieberman-Burchard. Ekstrak etanol diuapkan dalam cawan penguap diatas penangas air. Residu kemudian dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asamasetat anhidrat. Kemudian tambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Bila terbentuk cincin coklat menunjukkan adanya terpenoid, bila terbentuk cincin violet menunjukkan adanya steroid.

4) Uji Kandungan Alkaloid

Ekstrak ditambahkan 10 mL amoniak dan 10 mL kloroform, kemudian saring larutan kedalam tabung reaksi,

tambahkan Asam Sulfat 2N sebanyak 10 tetes, kocok, tambahkan pereaksi meyer, bila terbentuk endapan putih meunjukkan adanya alkaloid

5) Uji Kandungan Saponin

Ekstrak ditambahkan 1mL akuadest, kocok selama 15 menit dalam tabung reaksi, bila busa bertahan lama menunjukkan positif mengandung saponin (Munte et al., 2015).

Uji Aktivitas Antibakteri

1) Pembuatan Larutan Uji

Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah persentase volum per volume yaitu 100%, 75%, 50%, 25%, dan 5%, yang disiapkan dengan cara sebagai berikut (Tabel I). Sebagai kontrol positif adalah antibiotik klindamisin 2µg/mL dan sebagai kontrol negatif adalah akuadest steril

Tabel I. Pembuatan Larutan Uji

P	Variasi Konsentrasi	Cara pembuatan
P1	100% v/v	Madu murni tanpa pengenceran
P2	75% v/v	75 mL sampel madu dilarutkan dalam akuadest steril ad 100 mL
P3	50% v/v	50 mL sampel madu dilarutkan dalam akuadest steril ad 100 mL
P4	25% v/v	25 mL sampel madu dilarutkan dalam akuadest steril ad 100 mL
P5	5% v/v	5 mL sampel madu dilarutkan dalam akuadest steril ad 100 mL

2) Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Suspensi Bakteri

satu koloni bakteri *P. Acnes* dan *S. Aureus* dari biakan murni dimasukkan kedalam NaCl fisiologis (0,9%) dan inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan adalah difusi

agar. 1mL suspensi bakteri diinokulasikan ke permukaan media Muhler Hinton Agar 10µL larutan uji dari tiap konsentrasi larutan uji ditetaskan ke permukaan cakram dan ditempelkan ke permukaan media tersebut. Sebagai kontrol positif menggunakan 10µL larutan antibiotik dan

sebagai kontrol negatif menggunakan 10µL aquadest steril. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

c. Pengukuran Diameter Daerah Hambat

Pengukuran Diameter daerah hambat dilakukan setelah masa inkubasi selesai . Daerah hambatan yang terjadi di amati dengan di ukur dengan menggunakan penggaris.

3) Analisis Data

Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi larutan uji. Hasil kemudian dibandingkan dengan kontrol positif. Menurut Davis & Stout, (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut (Tabel II).

Tabel II. Pengukuran Diameter Daya Hambat Menggunakan Metode Davis Stout

Dimeter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
≤5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
≥20 mm	Sangat kuat

Data penelitian ini diolah dengan menggunakan uji statistik *Kruskall Wallis* yaitu menguji perbedaan signifikan dari beberapa kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil screening fitokimia 100% sampel memiliki kandungan metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin (Tabel III).

Tabel III. Skrining Kandungan Fitokimia Sampel Madu

No	Kode Sampel Madu	Kandungan Fitokimia					
		Flavonoid	Alkaloid	Terpenoid	Steroid	Fenol	Saponin
1	A	-	+	+	-	-	-
2	B	-	-	+	-	-	-
3	C	-	+	-	-	-	-
4	D	+	+	-	-	-	+
5	E	+	-	-	-	-	-
6	F	+	-	-	-	-	-

Senyawa alkaloid memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Alkaloid akan berinteraksi dengan DNA bakteri, sehingga menghambat sintesis DNA dan reverse transcriptase. Alkaloid juga melepaskan adhesin asam lipoteikoat dari permukaan sel sehingga mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang menyebabkan matinya bakteri (Schmeller et al., 1997).

Flavonoid memiliki aktivitas sebagai

antibakteri melalui penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sel dan penghambatan metabolisme energi. Penghambatan sintesa asam nukleat pada bakteri, berdampak pada terganggunya pembentukan RNA dan DNA. Flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan

diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler, yang berujung dengan kematian bakteri. Flavonoid juga dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat, dan bakteri tidak mendapatkan energi untuk biosintesis makromolekul sehingga bakteri akan mati (Hendra et al., 2011).

Terpenoid memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan reaksinya dengan porin (Protein transmembran) pada membran

luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa, sehingga dengan kerusakan porin tersebut mengakibatkan berkurangnya permeabilitas dinding sel bakteri sehingga bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri akan terganggu dan berujung dengan kematian bakteri (Cowan, 1999).

Dari Pengujian Aktivitas antibakteri Madu hutan terhadap bakteri *S.Aureus* menunjukkan aktivitas anti bakteri yang baik terhadap bakteri uji (Tabel IV).

Tabel IV. Diameter Daerah Hambat Madu Hutan terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kode Sampel	Diameter Daerah Hambat (cm) Pada Masing-Masing Konsentrasi Uji						KHM		
	100%	80%	60%	40%	20%	K+	K-	Konsentrasi	Kategori
Madu 1	2,9	2,5	1,5	1,2	1,0	2,3	0,0	20%	sedang
Madu 2	2,4	2,1	2,0	1,5	1,3	2,9	0,0	20%	kuat
Madu 3	2,7	2,6	2,5	2,3	1,8	3,6	0,0	20%	kuat
Madu 4	3,3	2,8	2,5	2,3	1,9	2,8	0,0	20%	kuat
Madu 5	3,3	2,5	2,1	1,9	1,8	3,3	0,0	20%	kuat
Madu 6	3,4	2,9	2,6	2,0	1,9	3,8	0,0	20%	kuat

Dari hasil uji statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* : terdapat perbedaan diameter zona hambat madu hutan antar kelompok perlakuan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Ada pengaruh kenaikan konsentrasi terhadap peningkatan diameter daerah hambat yang terbentuk (nilai *asympt.sig* (p)=0,000 diperoleh nilai p value = 0,000 < 0,05). Tidak terdapat perbedaan zona hambat antar jenis madu hutan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (p value = 0,801 > 0,05). Dari hasil ini secara statistik menunjukkan bahwa semua sampel madu yang diujikan pada penelitian ini memiliki kekuatan antibakteri yang sama.

Dari Pengujian Aktivitas antibakteri Madu hutan terhadap bakteri *P.Acnes*

menunjukkan aktivitas anti bakteri yang baik terhadap bakteri uji (Tabel V). Dari hasil uji statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* : terdapat perbedaan zona hambat madu hutan antar kelompok perlakuan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (*asympt.sig* (p)=0,000, nilai p value = 0,000 < 0,05). Dari hasil analisa ini ada pengaruh kenaikan konsentrasi terhadap peningkatan diameter daerah hambat yang terbentuk. Tidak terdapat perbedaan zona hambat antar jenis madu hutan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (nilai p value = 0,989 > 0,05). Dari hasil ini secara statistik menunjukkan bahwa semua sampel madu yang diujikan pada penelitian ini memiliki kekuatan antibakteri yang sama.

Tabel V. Diameter Daerah Hambat Madu Hutan terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

Kode Sampel	Diameter Daerah Hambat (cm) Pada Masing-Masing Konsentrasi Uji						KHM		
	100%	80%	60%	40%	20%	K+	K-	Konsentrasi	Kategori
Madu 1	0,9	0,8	0,6	0	0	3,9	0	60%	sedang
Madu 2	1,1	0,9	0,7	0	0	3	0	60%	sedang
Madu 3	1	1	0,9	0,7	0	3,1	0	40%	sedang
Madu 4	1,1	0,9	0,8	0,7	0	2,9	0	40%	sedang
Madu 5	1	1	0,9	0,7	0	3,5	0	40%	sedang
Madu 6	0,9	0,8	0,8	0,7	0	3,9	0	40%	sedang

KESIMPULAN

Seluruh sampel madu hutan asli Bengkulu memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acnes*. Madu hutan memiliki aktivitas antibakteri paling baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Madu hutan ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi bahan aktif dalam formula sediaan farmasi untuk pengobatan jerawat

SARAN

Disarankan untuk peneliti selanjutnya untuk menganalisa faktor lain dari madu yang turut memberikan aktivitas antibakteri, dan menguji madu ini pada bakteri gram negatif

DAFTAR RUJUKAN

- Andriani, M., Utami, R., Hariyati, L. F., Teknologi, J., Pertanian, H., & Pertanian, F. (2012). AKTIVITAS ANTIBAKTERI BERBAGAI JENIS MADU TERHADAP BAKTERI PEMBUSUK (*Pseudomonas fluorescens* FNCC 0071 dan *Pseudomonas putida* FNCC 0070) ANTIBACTERIA ACTIVITY OF SOME HONEY TO FOOD SPOILAGE BACTERIA (*Pseudomonas fluorescens* FNCC 0071 dan *Pseudomonas putida*). *Biomedika*, 5(1). [https://eprints.uns.ac.id/13215/1/Publikasi_Jurnal_\(7\).pdf](https://eprints.uns.ac.id/13215/1/Publikasi_Jurnal_(7).pdf)
- Asih, I. A. R. A., Ratnayani, K., & Swardana, I. B. (2012). ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID DARI MADU K ELENGKENG (*Nephelium longata* L.). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, Vol 6.(1), 72–78.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 12, Issue 4, pp. 564–582). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.659-665.1971>
- Fadhmi, Mudatsir, & Syaokani, E. (2017). PERBANDINGAN DAYA HAMBAT MADU SEULAWAH DENGAN MADU TRUMON TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi Dan Kependidikan*, 3(1), 9. <https://doi.org/10.22373/biotik.v3i1.986>
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M. Y., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(6), 3422–3431. <https://doi.org/10.3390/ijms12063422>
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J., Morse, S. A., & Mietzner, T. (2013). Medical Microbiology. In *Jawetz, Melnick,*

- Adelberg's* (26 interna). Mc Graw Hill Lange.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Munte, L., Max Revolta Runtunewa, & Citraningtyas, G. (2015). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN PRASMAN (*Eupatorium triplinerve* Vahl.). *PHARMACON*, 4(3), 41–50.
<https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.8836>
- Parwata, O. A., Ratnayani., K., & Listya, A. (2010). Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) Dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata* L.). *Jurnal Kimia*, 4(1), 54–62.
- Sahputra, A. (2014). *Uji Efektifitas Ekstrak Madu Karet Dalam Menghambat Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. 1–34.
<http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/25515/1/ARDINSAHPUTRA-FKIK.pdf>
- Sawarkar, H. A., Khadabadi, S. S., Mankar, D.M., F., Arooqui, I. A., & Jagtap, N. . (2010). Development and Biological Evaluation Of Herbal Anti Acne Gel. *International Journal Of PharmTechResearch*, vol.2, no., 2028–2031.
- Schmeller, T., Latz-Brüning, B., & Wink, M. (1997). Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical defence against microorganisms and herbivores. *Phytochemistry*, 44(2), 257–266. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00545-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00545-6)
- Taormina, P. J., Niemira, B. A., & Beuchat, L. R. (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*, 69(3), 217–225.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00505-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00505-0)