

**PERBANDINGAN DAYA HAMBAT MADU ALAMI
ASAL AMFOANG DAN MADU KEMASAN
SECARA *IN VITRO* TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

KARYA TULIS ILMIAH



Oleh:

**Didi Putra Manu Lede
PO. 530333215685**

Karya Tulis Ilmiah ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program pendidikan Ahli Madya Farmasi

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG
PROGRAM STUDI FARMASI
KUPANG
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

KARYA TULIS ILMIAH

**PERBANDINGAN DAYA HAMBAT MADU ALAMI
ASAL AMFOANG DAN MADU KEMASAN
SECARA *IN VITRO* TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

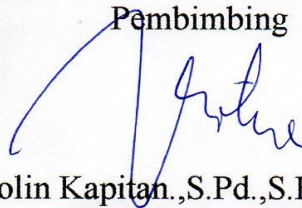
Oleh :

Didi Putra Manu Lede
PO 530333215685

Telah disetujui untuk mengikuti ujian

Kupang, 27 Juli 2018

Pembimbing



Lely Adel Violin Kapitan.,S.Pd.,S.Farm.,Apt.,M.Kes.
NIP.197011061989032001

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

**PERBANDINGAN DAYA Hambat MADU ALAMI
ASAL AMFOANG DAN MADU KEMASAN
SECARA *IN VITRO* TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Oleh :

**Didi Putra Manu Lede
PO 530333215685**

Telah di pertahankan didepan Tim Penguji

Pada tanggal 30 Juli 2018

Susunan Tim Penguji

1. **Stefany S. A. Fernandez, S.Farm., Apt., M.si**

2. **Lely Adel Violin Kapitan., S.Pd., S.Farm.,Apt., M.Kes**

Karya Tulis Ilmiah ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi

Kupang, Juli 2018

Ketua Prodi Farmasi

Maria Hilaria, S.Si., S.Farm., Apt., M.Si
NIP.197506201994022000



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Kupang, Juli 2018



Didi Putra Manu Lede

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena hanya atas berkat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Perbandingan daya hambat madu alami asal amfoang dan madu kemasan secara *invitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*”.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dengan tujuan memberikan informasi kepada pembaca tentang bagaimana daya hambat madu alami asal amfoang dan madu kemasan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dimaksudkan sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan tugas akhir pada Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang. Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, penulis mendapat dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ibu Ragu Harming Kristina, SKM., M.Kes selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Kupang.
2. Ibu Maria Hilaria, S.Si., S.Farm., Apt., M.Si selaku Ketua Jurusan Farmasi
3. Ibu Lely Adel Violin Kapitan, S.Pd., S.Farm., Apt., M.Kes selaku pembimbing yang telah membimbing dan memberikan masukan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Stevany S. A. Fernandez, S.Farm., Apt., M.si selaku penguji 1 yang telah mengarahkan, memberikan masukan dan saran dalam melakukan penelitian serta penyusunan Karya Tulis Ilmiah.

5. Bapak Yulius Baki Korassa, S.Farm., Apt., M.si selaku pembimbing akademik yang telah membimbing penulis dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Ibu Asmaira B. Tarigan A.md.F selaku laboran yang selalu membimbing dan mengarahkan peneliti selama penelitian.
7. Bapak dan Ibu Dosen bersama Staf pengajar yang telah membimbing penulis selama menuntut ilmu di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang.
8. Kedua Orang Tua, Bapak Agustinus Manu Lede, Mama Mergarita Rame dan kedua Saudari Fina Sintia Manu Lede dan Apriani Manu Lede yang selalu mendukung dan mendoakan penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Rekan-rekan PMK Farmalis, Kakak PKTB Charles Koroh dan saudara KTB (Erik, Naldo, Filmon) yang selalu mendukung penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Teman-teman angkatan XVI khususnya Petrus, Yedi, Vinsen, Ian, Yosep, Kristo, Tores, Lia ,Dede, Novi, Ketrin, Delvi, Niken, Hilda dan Teman terdekat Grasela G.T. Banggo yang telah membantu dan mendoakan penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
11. Kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, karena itu kritik dan saran dari berbagai pihak, sangat penulis harapkan guna penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Kupang, Juli 2018

Penulis

INTISARI

Telah dilakukan penelitian tentang Perbandingan daya hambat madu alami asal amfoang dan madu kemasan secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini adalah mengukur diameter efektifitas madu alami asal Amfoang dan madu kemasan terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* serta membandingkan efektifitas madu alami asal amfoang dan madu kemasan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Zona Hambatan adalah daerah melingkar disekitar silinder yang terbentuk dari daya hambat Madu alami asal Amfoang dan madu kemasan. Jenis penelitian ini adalah eksperimen percobaan lengkap menggunakan kontrol positif paper disk *Co-Amoksiklav*. Metode yang digunakan adalah metode difusi silinder yang menggunakan perbandingan dua sampel yaitu madu alami asal amfoang dan madu kemasan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Percobaan ini menggunakan empat varian konsentrasi yaitu konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dan kontrol positif paper disk *Co-Amoksiklav 30µg*. Masing-masing konsentrasi dibuat dengan tiga kali replikasi. Data hasil penelitian ini di olah menggunakan statistik non parametrik *Kruskal Wallis* yang menunjukkan bahwa madu alami asal Amfoang dan madu kemasan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

Kata kunci: Daya hambat, *Staphylococcus aureus*, Madu alami asal amfoang, Madu kemasan.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II Tinjauan Pustaka	5
A. Tinjauan tentang Madu.....	5
1. Lebah	5
2. Madu	6
B. Tinjauan tentang Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	9
1. Klasifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2. Ciri-ciri bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	10
3. Jenis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	11
C. Tinjauan tentang Antibakteri	11
1. Pengertian	11
2. Mekanisme Kerja Antibakteri	11
3. Metode Penentuan Potensi Antibakteri.....	11
BAB III Metode Penelitian	13
A. Jenis Penelitian	13
B. Tempat dan Waktu Penelitian	13
C. Sampel dan Teknik Sampling	13
D. Variabel Penelitian	13
E. Kerangka Konsep	14
F. Definisi Operasional.....	14
G. Alat dan Bahan	15
H. Prosedur Penelitian	15
I. Analisis Data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	25
A. SIMPULAN	25
B. SARAN	25
DAFTAR PUSTAKA	26

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil perhitungan koloni bakteri pengenceran suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat madu alami terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat madu kemasan terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Tabel 4. Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i> zona hambat madu alami dan madu kemasan terhadap bakteri <i>Staphylococcus aures</i>	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat ijin penggunaan Laboratorium	27
Lampiran 2. Skema Kerja Daya Hambat Madu Alami Asal Amfoang dan Madu Kemasan	28
Lampiran 3. Skema Pembuatan Kultur Bakteri	29
Lampiran 4. Skema Pengenceran Bakteri	30
Lampiran 5. Skema Pembuatan Konsentrasi Larutan Madu Alami Asal Amfoang dan Madu Kemasan	31
Lampiran 6. Skema Kerja Uji Daya Hambat Madu Alami Asal Amfoang dan Madu Kemasan Dengan Metode Difusi Silinder	32
Lampiran 7. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi madu alami dan madu kemasan	33
Lampiran 8. Komposisi media	34
Lampiran 9. Perhitungan pembuata media	36
Lampiran 10. Hasil uji SPSS	37
Lampiran 11. Dokumentasi pengambilan sampel dan penelitian.....	39
Lampiran 12. Surat selesai penelitian	43

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri. Penyakit ini merupakan penyakit yang banyak ditemukan dalam masyarakat. Penyakit infeksi ini menjadi penyebab kematian terbesar pada kalangan anak-anak dan orang dewasa dengan jumlah kematian lebih dari 13 juta jiwa setiap tahun, dan satu dari dua kematian sering terjadi di negara berkembang, salah satunya adalah negara Indonesia (WHO, 1999). Infeksi yang terjadi bisa di obati dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai oleh masyarakat bisa menimbulkan berbagai masalah seperti efek samping dan resistensi antibiotik.

Pencarian antimikroba baru yang lebih efektif dan aman harus terus dilakukan terutama yang berasal dari alam seperti madu karena selain berkhasiat sebagai antimikroba, Madu juga mudah didapat, harganya terjangkau dan efek samping yang ditimbulkan relatif kecil bila dibandingkan dengan obat kimia modern.

Madu merupakan cairan kental berasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar bunga dan diduga berkhasiat untuk menyembuhkan banyak penyakit, seperti penyakit saluran pencernaan, lambung, penyakit kulit, infeksi saluran pernapasan akut, dan batuk, serta gangguan mata (Baskara, 2008).

Madu juga memiliki efek antibakteri sehingga banyak dipakai untuk mengobati luka dan mempercepat penyembuhan (Suranto, 2007).

Secara tradisional masyarakat biasa menggunakan madu untuk mengobati penyakit infeksi pada kulit yang luka dengan cara mengoleskan madu pada bagian yang terinfeksi secara merata. Infeksi tersebut terjadi karena adanya bakteri penyebab infeksi pada luka tersebut. *Staphylococcus aureus* merupakan Bakteri Gram positif yang bersifat patogen utama bagi manusia. Bakteri ini menghasilkan pigmen yang bervariasi dari warna putih sampai kuning tua. Bakteri ini dapat masuk dalam kulit melalui folikel-folikel rambut dan luka-luka kecil pada kulit. Bakteri *staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang terdapat pada luka infeksi. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah (Jawetz, 2007).

Pengobatan infeksi tersebut secara tradisional juga bisa menggunakan madu. Berdasarkan cara pengolahan, madu terbagi atas madu alami dan madu kemasan. Secara fisik madu kemasan memiliki kemiripan dengan madu alami tetapi terdapat perbedaan pada kandungan nutrisi madu. Madu alami memiliki kandungan gula yang tinggi berupa fruktosa 38,19%, glukosa 31%, dan sukrosa 1,31%. Kandungan gula yang terdapat pada madu alami mengakibatkan viskositas madu alami menjadi kental dibandingkan madu kemasan, hal ini disebabkan pada proses pembuatan madu kemasan terdapat tahap pemberian air dan campuran lainnya agar volume dari madu kemasan menjadi lebih banyak. Selain itu, madu kemasan tidak mengandung enzim, vitamin dan mineral seperti yang terdapat pada madu alami (Wineri dkk, 2014).

Madu alami dapat diperoleh dari hutan. Madu ini dihasilkan oleh lebah liar yang menghisap bakal kuncup bunga dari beranekaragam tanaman yang ada

di hutan. Hutan Amfoang merupakan salah satu hutan penghasil Madu di Nusa Tenggara Timur. Madu yang diperoleh dari hutan daratan pulau timor ini diproses dengan cara membakar sarang lebah dengan api lalu sarang itu diambil untuk diperas madunya yang mana untuk memperoleh satu liter madu dibutuhkan kurang lebih lima lempeng sarang lebah (KOMPAS, 2016).

Madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena mengandung senyawa antibakteri seperti *sinapic*, *isoferulic*, dan *asam caffeic* (Frans, 2008). Hasil penelitian lain juga menyebutkan madu mengandung senyawa *Hidrogen peroksida* yang bersifat sebagai antibakteri (Purbaya, 2008).

Penelitian yang dilakukan Wineri dkk (2013) tentang Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan secara *In Vitro* terhadap *Streptococcus beta hemoliticus Group A* sebagai Penyebab Faringitis memperoleh hasil Madu alami memiliki efek antibakteri yang lebih kuat terhadap bakteri *Streptococcus beta hemoliticus Group A* dibandingkan dengan madu kemasan.

B. Rumusan Masalah

Apakah Madu Alami asal Amfoang memiliki efektifitas yang lebih baik dari Madu Kemasan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Membandingkan efektifitas Madu alami asal Amfoang dan Madu kemasan secara *in vitro* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengukur diameter efektifitas madu alami asal Amfoang terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Mengukur diameter efektifitas madu kemasan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- c. Mengukur besarnya diameter zona hambatan efektifitas daya hambat Madu Alami asal Amfoang dan Madu kemasan secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus*.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Untuk mengaplikasikan ilmu pengetahuan yang diperoleh selama perkuliahan.

2. Bagi Institusi

Untuk menambah referensi dan kepustakaan.

3. Bagi Masyarakat

Sebagai tambahan pengetahuan bagi masyarakat tentang Madu Alami dan Madu Kemasan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Tentang Madu

1. Lebah

1) Pengertian

Lebah adalah serangga bersayap, berkaki enam yang memiliki bulu halus pada tubuh, perutnya bergaris-garis dan mempunyai antena dan ukuran yang bervariasi tergantung jenis spesiesnya (Suranto, 2007).

2) Klasifikasi Lebah

Lebah dapat diklasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Arthropoda

Subklas : Pterygota

Klas : Insecta

Ordo : Hymenoptera

Famili : Apidae (lebah madu)

Genus : *Apis*

Spesies : *Apis dorsata*, *Apis mellifera*, dan lain-lain.

(Suranto, 2007).

3) Jenis-jenis Lebah Madu

Lebah madu terdapat beberapa spesies yaitu : *Apis indica*, *Apis cerana*, *Apis dorsata*, *Apis florea*, *Apis koschevnikovi*, *Apis mellifera* dan *Apis laboriosa* (Suranto, 2007).

2. Madu

1) Pengertian dan karakteristik Madu

Madu merupakan cairan yang memiliki rasa manis dan dihasilkan oleh lebah madu (*Apis Sp*) dari sari bunga tanaman (*floral nektar*) atau bagian lain dari tanaman (*extra floral*).

Ada banyak jenis madu menurut karakteristiknya. Karakteristik madu dapat dibedakan berdasarkan sumber nektar, letak geografi, dan teknologi cara memprosesnya. Jenis madu berdasarkan sumber nektarnya dapat dibagi menjadi dua, yaitu monoflora dan poliflora. Madu monoflora merupakan madu yang diperoleh dari satu tumbuhan utama. Madu ini biasanya dinamakan berdasarkan sumber nektarnya, seperti madu kelengkeng, madu rambutan dan madu randu.

Madu monoflora mempunyai wangi, warna dan rasa yang spesifik sesuai dengan sumbernya. Madu monoflora juga disebut madu ternak, karena madu jenis ini pada umumnya ditenakkan sedangkan madu poliflora merupakan madu yang berasal dari nektar beberapa jenis tumbuhan bunga. Lebah cenderung mengambil nektar dari satu jenis tanaman dan baru mengambil dari tanaman lain bila belum mencukupi. Contoh dari madu jenis ini adalah madu hutan. Madu ini berasal dari lebah liar yang bernama *Apis dorsata*. Madu hutan juga sangat baik untuk kesehatan karena mengandung antibiotik alami yang diproduksi oleh lebah-lebah liar (Suranto, 2007).

Madu bisa diperoleh dari lebah dengan cara madu peras (diperas langsung dari sarangnya) dan madu ekstraksi (diperoleh dari proses sentrifugasi) (Suranto, 2007).

2) Proses terbentuknya Madu

Proses pembentukan madu berawal dari lebah madu yang mencari dan mengumpulkan nektar dari tanaman (Purbaya, 2007). Nektar merupakan senyawa yang kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar necterifier dalam bunga. Kandungan dari nektar antara lain sukrosa, fruktosa, dan glukosa dan juga kandungan lain seperti asam amino, resin, protein, air dan garam. Selain mengisap nektar lebah juga akan membawa pollen yaitu serbuk yang terdapat di dalam putik-putik bunga yang dilekatkan pada bagian kaki dan tubuh sawaktu lebah masuk ke dalam mahkota bunga untuk menghisap dan mengambil nektar. Selanjutnya adalah serbuk yang dibawah oleh lebah tersebut akan dihisap dan ditelan oleh lebah madu pekerja. Setelah tiba disarangnya lebah pekerja akan mengeluarkan nektar yang telah ditelan tadi dan dikunyah hingga lembut. Pada saat inilah terjadi proses pengubahan dari nektar menjadi gula invert. Pada saat itu akan terjadi kontak antara nektar dan cairan saliva lebah pekerja. cairan saliva ini memiliki kandungan enzim-enzim hidrolase atau enzim invertase sehingga pada tahapan ini terjadi pemecahan gula dari senyawa sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Setelah itu lebah akan mengibaskan sayapnya untuk mengurangi kandungan air pada cairan gula yang selanjutnya cairan gula atau madu ini akan dimatangkan oleh lebah dalam sarangnya.

3) Karakter fisik madu

Menurut Suranto (2007) madu memiliki beberapa karakteristik fisik antara lain :

- a) Kental
- b) Sifat menarik air
- c) Warna terang hingga hitam
- d) Lambat menyerap suhu
- e) Aroma khas
- f) Rasa manis

4) Kandungan madu

Menurut Baskara (2008) madu memiliki kandungan yang sangat bermanfaat bagi manusia. Kandungan yang terdapat dalam madu yaitu zat gizi, vitamin dan mineral. Selain itu Madu juga mengandung senyawa antibakteri seperti *sinapic*, *isoferulic*, dan *asam caffeic* (Frans, 2008). Hasil penelitian lain juga menyebutkan madu mengandung senyawa *Hidrogen peroksida* yang bersifat sebagai antibakteri (Purbaya, 2008).

5) Manfaat madu

Manfaat dari madu sendiri adalah untuk mengobati :

- a) Diare

Madu dapat mengganti cairan tubuh yang habis dikeluarkan, selain itu madu mengandung antibakteri dan memiliki kandungan nutrisi yang mudah dicerna oleh tubuh (Suranto, 2007).

b) Sebagai antibakteri

Madu mengandung kadar gula yang tinggi sehingga susah untuk ditumbuhi oleh bakteri. Selain itu madu juga mengandung senyawa *sinapic*, *isoferulic*, dan *asam caffeic* serta senyawa *Hidrogen peroksida* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (frans, 2008).

c) Anemia dan Thalasemia

Didalam madu mengandung zat besi, asam folat dan juga vitamin B₁₂ yang dapat membantu pembentukan hemoglobin.

d) Mengobati luka

Madu dapat digunakan untuk mengobati luka pada kulit dengan cara mengoleskan madu secara merata dan teratur pada kulit (Suranto, 2007).

B. Tinjauan tentang Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang ada pada tubuh manusia. Bakteri ini dapat berubah menjadi patogen apabila jumlahnya sudah melebihi kadar normalnya yaitu lebih dari 10⁵. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif dan biasanya tersusun dalam kelompok seperti anggur yang tidak teratur. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik di beberapa medium dan aktif secara metabolik (Jawetz dkk, 2008).

1. Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Kingdom : Eubacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2. Ciri-ciri bakteri *Staphylococcus aureus*

Ciri khas *Staphylococcus aureus* adalah berbentuk bola dengan diameter 0,1 μm . Bakteri ini saat dilakukan pewarnaan menunjukkan kokus Gram positif yang bergerombol tidak teratur seperti anggur (Stoppler, 2008). Biakan *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik diberbagai media bakteri dibawah suasana aerobik dan mikroaerobik.

Media untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya mengandung asam amino dan vitamin seperti thereonin, asam nikotinat, dan biotin. Bakteri ini biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning tua kecoklatan (Usman Suwandi, 1999). *Staphylococcus aureus* bersifat patogen (menyebabkan penyakit).

Penyakit yang sering ditimbulkan antara lain :

- 1) Radang dikulit atau dibawah kulit dan menimbulkan bisul bernanah.
- 2) Lubang berisi nanah yang biasa disebut abses.

3. Jenis bakteri *Staphylococcus*

Berdasarkan warna koloni, *Staphylococcus* dibedakan menjadi :

- 1) *Staphylococcus albus* : Berwarna putih
- 2) *Staphylococcus citerus* : berwarna kuning atau kehijauan
- 3) *Staphylococcus aureus* : berwarna kuning tua atau seperti emas

C. Tinjauan Tentang Antibakteri

1. Pengertian

Antibakteri adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri dan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tjay dan Rahardja, Edisi ke enam).

2. Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri adalah menghambat sintesis protein sehingga bakteri tidak bisa berkembang lagi, merusak dinding sel bakteri, menghambat sintesis RNA (Tjay dan Rahardja, Edisi ke enam).

3. Metode penentuan potensi Antibakteri

Penentuan potensi antibakteri terhadap obat-obatan antimikroba dapat dilakukan dengan metode dilusi atau difusi. Metode-metode tersebut dapat dilakukan untuk memperkirakan baik potensi antibiotik dalam sampel maupun kerentanan mikroorganisme dengan menggunakan organisme uji standar yang tepat dan sampel obat tertentu untuk perbandingan. Metode-metode yang dapat digunakan adalah:

1) Metode Difusi

Metode difusi dilakukan dengan 3 cara yaitu :

a) Metode silinder

Dilakukan dengan cara meletakkan silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat diatas media agar yang telah diinokulasi bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa sehingga berdiri

di atas media agar. Kemudian silinder diisi dengan larutan yang akan diuji dan di inkubasi. Pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekitar silinder.

a) Metode lubang/sumuran

Dilakukan dengan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian. Kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasikan. Setelah diinkubasikan pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekitar lubang.

b) Metode cakram kertas

Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah direndam dengan larutan uji kemudian diletakan diatas media padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Setelah diinokulasikan pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekitar lubang.

1) Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Metode difusi biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Kemudian diinkubasikan dan diamati ada tidaknya hambatan pertumbuhan (Jawetz dan Adelberg, 2007).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimen dengan percobaan lengkap menggunakan kontrol positif paper disk *Co-Amoksiklav*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

a. Tempat Penelitian

Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang.

b. Waktu Penelitian

Pada bulan Mei-Juli Tahun 2018.

C. Sampel

Sampelnya adalah Madu alami asal Amfoang dan Madu kemasan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

D. Variabel Penelitian

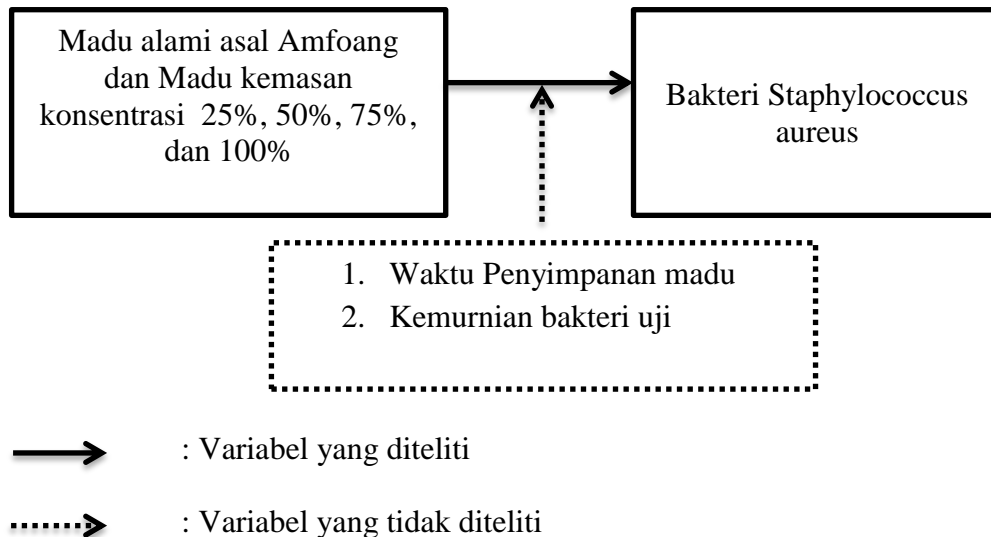
1. Variabel Bebas

Madu alami asal Amfoang dan Madu kemasan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% .

2. Variabel Terikat

Daya hambat Madu alami dan Madu kemasan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

E. Kerangka Konsep



F. Definisi Operasional

1. Madu

Madu yang digunakan dalam penelitian adalah Madu alami asal Amfoang dan Madu kemasan yang di jual dipasaran.

2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri isolat yang diperoleh dari laboratorium RSUD Prof. Dr. W.Z Yohanes Kupang.

3. Zona Hambatan

Zona Hambatan adalah daerah melingkar disekitar silinder yang terbentuk dari daya hambat Madu alami asal Amfoang konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dan Madu kemasan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

4. Madu alami

Madu alami adalah madu yang diambil dari Amfoang dan diperoleh dari lebah madu dalam keadaan murni tanpa ada campuran zat-zat lain.

5. Madu kemasan

Madu kemasan adalah madu yang di jual dipasaran dan diragukan kealamiannya.

G. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

Rak tabung, tabung reaksi, batang pengaduk, cawan petri, ose steril, pipet ukur, labu ukur, beaker glass, autoclave, inkubator, silinder, bunsen, swab steril, korek api, sendok tanduk dan penggaris, Laminar Air Flow (LAF), penggaris, dan jangka sorong.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

Madu asli asal Amfoang, Madu kemasan, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Plate count agar*(PCA), *Pepton dilution fluit*(PDF), *Brain heart infusion agar*(BHIB), *Baird parker agar*(BPA), cakram antibiotik *Co-Amoksiklav 30 µg*, alkohol 70%, dan aquadest.

H. Prosedur Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit dan juga Ruang Laboratorium diaseptiskan menggunakan larutan desinfektan wipol untuk menghindari terjadi kontaminasi dari Mikroba.

2. Pembuatan Kultur Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium RSUD Prof. Dr. W.Z. Yohanes Kupang. Pembuatan kultur bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri dari biakan murni kemudian di inokulasi ke dalam 10 mL BHIB, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diisolasikan biakan BHIB ke media spesifik BPA dengan cara digores kemudian diinkubasi lagi pada suhu 37°C selama 24 jam. Lakukan pengamatan koloni yang tumbuh dengan ciri-ciri koloni berwarna kuning mengkilap.

3. Pengenceran bakteri *Staphylococcus aureus*

Biakan dari BHIB yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dipipet 1 mL kemudian diinokulasikan kedalam 9 mL PDF (pengenceran 10^{-1}). Dari pengenceran 10^{-1} dipipet 1 mL kedalam 9 mL PDF (pengenceran 10^{-2}) dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-6} . Kemudian dari masing-masing pengenceran dipipet 1 mL kedalam cawan petri dibuat duplo (dua kali pengulangan). Tuangkan 10 mL PCA kedalam cawan petri yang telah berisi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian diinkubasikan terbalik pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah 24 jam dipilih cawan pada pengenceran yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dengan $\pm 1.000.000$ koloni/mL. Setelah perhitungan koloni pada *colony counter*, maka pengenceran suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, pada media PDF yang diambil untuk uji aktivitas antibakteri adalah pengenceran bakteri

Staphylococcus aureus yang menunjukkan pertumbuhan $\pm 1.000.000$ koloni/mL sebagai standar.

4. Pembuatan larutan Sampel madu alami asal Amfoang dan madu kemasan dengan seri konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%
(Perhitungan terlampir).

Konsentrasi madu dibuat masing-masing untuk tiap pengenceran yaitu 2,5 mL (25%) dilarutkan dalam 10 mL aquades, madu 5,0 mL (50%) dilarutkan dalam 10 mL aquades, madu 7,5 mL (75%) dilarutkan dalam 10 mL aquades, sedangkan untuk madu konsentrasi 100% dipipet 10 mL dan tidak perlu dilarutkan, setelah itu ditutup dengan *aluminium foil*.

5. Uji Efektivitas dan daya hambat.

Uji Efektivitas dan daya hambat menggunakan 2 sampel yaitu madu alami asal Amfoang dan madu kemasan dengan prosedur sebagai berikut :

- 1) Dibuat 40 mL media PCA sebagai *base layer* untuk 3 (triplo) cawan petri masing-masing 10 mL, dibiarkan memadat. 3 cawan petri untuk pengujian dan 1 cawan petri sebagai kontrol media.
- 2) Dibuat 80 mL media PCA sebagai *seed layer* untuk 4 cawan petri masing-masing 20 mL. Tiga cawan petri untuk pengujian dan satu cawan petri sebagai kontrol media, kemudian Media untuk pengujian dimasukkan dalam 3 tabung reaksi.
- 3) Kedalam 3 tabung reaksi dimasukkan 1% inokulum dengan dengan jumlah koloni $\pm 1.000.000$ sel/mL dari hasil pengenceran dan di homogenkan.
- 4) Masukkan kedalam cawan petri yang berisi *base layer*, biarkan membeku.

- 5) Diletakan silinder di atas *seed layer* secara aseptis.
- 6) Dipipet 0,1 mL sampel (madu alami asal Amfoang) dari seri konsentrasi terkecil sampai terbesar dan kontrol positif *paper disk Co-Amoksiklav* kedalam silinder dan didiamkan selama 60 menit, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 7) Angkat silinder dan amati zona bening yang terbentuk dan di ukur dengan penggaris atau jangka sorong.

I. Analisis Data

Data hasil penelitian yaitu luas diameter zona hambat dianalisis menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) dengan metode *Analysis of Varians* (ANOVA) untuk uji efektifitas dan *Paired Sample T Test* untuk perbandingan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui daya hambat Madu alami dan Madu kemasan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilakukan dilaboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang pada bulan Juli.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen percobaan lengkap dengan menggunakan control positif paper disk *Co-Amoksiklav 30 µg*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu alami asal amfoang dan madu kemasan. Madu alami yang digunakan diambil dari Desa Leloboko, Kecamatan Amfoang selatan, Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. Sedangkan madu kemasan diperoleh dari salah satu mini market di Kota Kupang. Sampel yang diperoleh selanjutnya di buat larutan uji dengan seri konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Tahap penetapan bakteri *Staphylococcus aureus* standar dibuat dengan pengenceran bertingkat yaitu pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-16} dengan tujuan untuk mengetahui pada pengenceran berapa yang menunjukkan koloni $\pm 1.000.000$ koloni/mL dan dari hasil tersebut digunakan sebagai standar uji daya hambat bakteri. Pengenceran yang digunakan sebagai standar adalah pengenceran terbesar yaitu 10^{-16} . Berdasarkan hal tersebut, maka dari pengenceran 10^{-16} kemudian dikonversikan hingga mendapat pengenceran yang diduga memiliki jumlah koloni $\pm 1.000.000$ koloni/mL.

Tabel 1. Hasil perhitungan koloni bakteri pengenceran suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengenceran	Perlakuan		Rata-rata
	1	2	
10^{-1}	TT	TT	TT
10^{-2}	TT	TT	TT
10^{-3}	TT	TT	TT
10^{-4}	TT	TT	TT
10^{-5}	TT	TT	TT
10^{-6}	TT	TT	TT
10^{-7}	TT	TT	TT
10^{-8}	TT	TT	TT
10^{-9}	TT	TT	TT
10^{-10}	TT	TT	TT
10^{-11}	TT	TT	TT
10^{-12}	TT	TT	TT
10^{-13}	TT	TT	TT
10^{-14}	TT	TT	TT
10^{-15}	TT	TT	TT
10^{-16}	TT	TT	TT

(Sumber : Data primer penelitian, 2017)

Keterangan : TT : Tidak Terbaca

Berdasarkan tabel hasil uji perhitungan koloni memperlihatkan bahwa pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-16} jumlah koloni bakteri yang tumbuh terlalu banyak sehingga tidak bisa terhitung. Sehingga diperlukan proses penambahan pengenceran lagi hingga diperoleh jumlah koloni per cawan berkisar antara 30-300 koloni sehingga dapat dihitung untuk mendapatkan jumlah sel 1.000.000 sel/mL. Namun karena keterbatasan waktu penelitian sehingga peneliti tidak bisa melanjutkan proses pengenceran sehingga peneliti menggunakan pengenceran terbesar yaitu 10^{-16} dengan jumlah koloni yang diduga mendekati 1.000.000 koloni/mL.

Tahap uji perbandingan daya hambat madu alami asal amfoang dan madu kemasan secara *invitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

menggunakan metode difusi silinder dengan varian 4 konsentrasi yaitu 25 %, 50 %, 75%, dan 100%. Hasil uji daya hambat antibakteri dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat madu alami terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perlakuan	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
Kontrol (+)	18,7 mm	18,65 mm	18,75 mm	56,1 mm	18,7 mm
25%	28,4 mm	30,3 mm	27,2 mm	85,9 mm	28,63 mm
50%	29,5 mm	31,5 mm	31,1 mm	92,1 mm	30,7 mm
75%	39,5 mm	33,1 mm	33,2 mm	105,8 mm	35,26 mm
100%	41,3 mm	41,40 mm	33,9 mm	116,6 mm	38,86 mm

(sumber : Data primer penelitian, 2018)

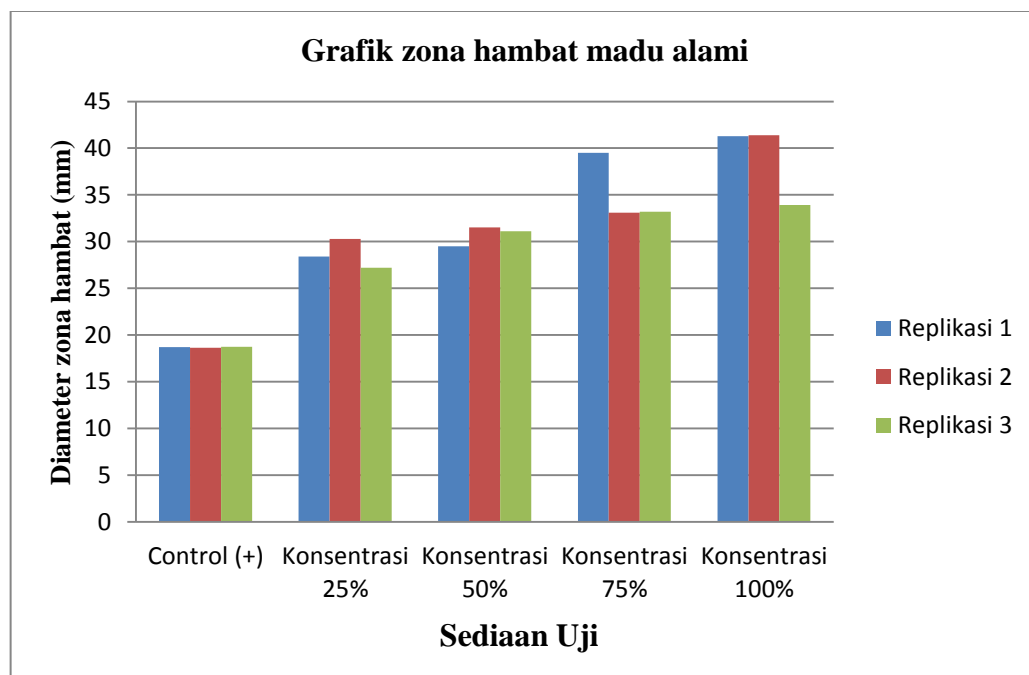
Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat madu kemasan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

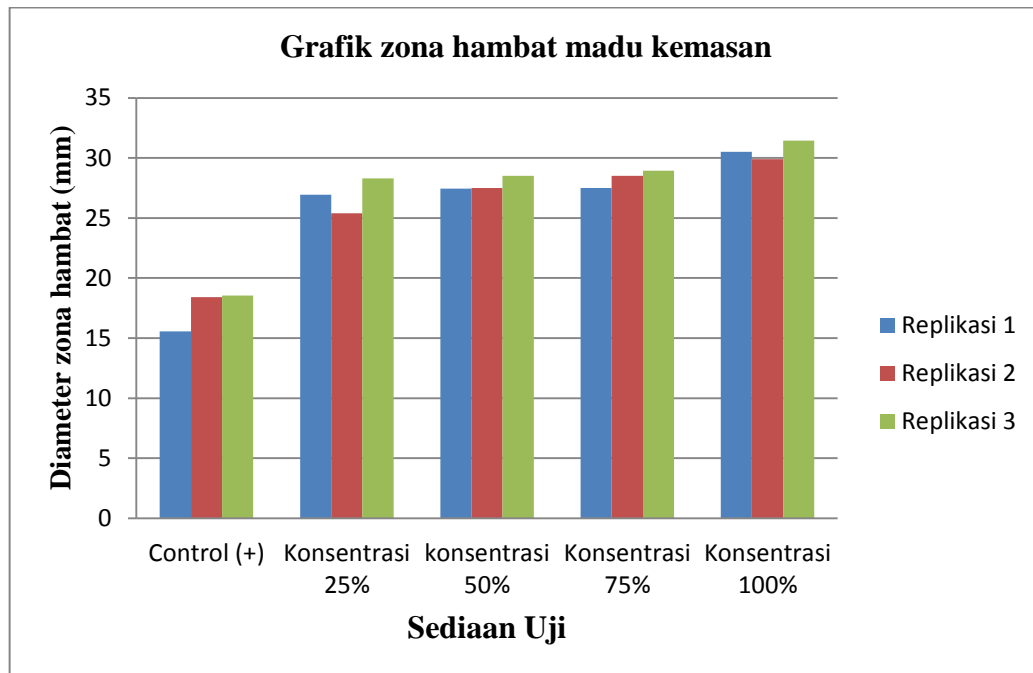
Perlakuan	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
Kontrol (+)	17,55 mm	18,4 mm	18,55 mm	54,5 mm	18,16 mm
25%	26,95 mm	25,4 mm	28,3 mm	80,65 mm	26,88 mm
50%	27,45 mm	27,5 mm	28,5 mm	83,45 mm	27,81 mm
75%	27,50 mm	28,5 mm	28,95 mm	84,95 mm	28,31 mm
100%	30,50 mm	29,9 mm	31,45 mm	91,85 mm	30,61 mm

(sumber : Data primer penelitian, 2018)

Berdasarkan hasil uji pada tabel 1 dan 2 memperlihatkan bahwa pada pengujian daya hambat antibakteri madu alami dan madu kemasan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan varian 4 seri konsentrasi madu alami dan madu kemasan yaitu konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memperlihatkan adanya zona hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada tabel 1 memperlihatkan zona hambat terkecil dari madu alami terdapat pada konsentrasi 25% dengan rata-rata 28,63 mm dan zona hambatan terbesar terdapat pada konsentrasi 100 % dengan rata-rata 38,86 mm. Sedangkan pada tabel 2 memperlihatkan zona hambat terkecil

dari madu kemasasan terdapat pada konsentrasi 25 % dengan rata-rata 26,88 mm dan zona hambatan terbesar terdapat pada konsentrasi 100 % dengan rata-rata 30,61 mm. Pada penelitian ini menggunakan kontrol positif yaitu cakram *Co-Amoksiklav 30 μ g* yang juga menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini dibuktikan dengan adanya zona bening disekitar cakram dengan diameter rata-rata pada madu alami sebesar 18,7 mm dan pada madu kemasana rata-rata 18,16 mm. Berdasarkan data pada tabel 2 dan 3 dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin besar pula zona hambatan yang terbentuk. Untuk memperjelas dapat dilihat pada grafik zona hambat bakteri *staphylococcus aureus*.





Data hasil pengukuran diameter zona hambat madu alami dan madu kemasan kemudian di analisis menggunakan uji *Analisis Of Varians* untuk melihat efektifitas dan uji *Paired Sample T-Test* untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan dari madu alami dan madu kemasan. Syarat uji Anova adalah data yang digunakan harus homogen dan berdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil analisa statistik yang dilakukan data hasil penelitian tidak homogen dan tidak berdistribusi normal sehingga data hasil penelitian di olah menggunakan statistik non parametrik *Kruskal wallis*.

Hasil uji memperlihatkan bahwa nilai madu alami 0,023 ($p < 0,05$) dan nilai madu kemasan 0,043 ($p < 0,05$). Hasil uji menunjukkan bahwa madu alami asal amfoang dan madu kemasan memiliki efektifitas yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Selanjutnya untuk melihat perbandingan perkonsentrasi sampel madu alami dan madu kemasan dilakukan uji

perbandingan masing-masing sampel perkonsentrasi menggunakan uji *Kruskal wallis*. Data hasil uji dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji *Kruskal Wallis* zona hambat madu alami dan madu kemasan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Konsentrasi (%)	Nilai p ($p < 0,05$)
Madu alami 25% dan madu kemasan 25%	$(0,127 > 0,05)$
Madu alami 50% dan madu kemasan 50%	$(0,050 < 0,05)$
Madu alami 75% dan madu kemasan 75%	$(0,050 < 0,05)$
Madu alami 100% dan madu kemasan 100%	$(0,050 < 0,05)$

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% madu alami dan madu kemasan tidak ada perbedaan yang signifikan karena nilai p yang diperoleh $> 0,05$. Sedangkan pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% madu alami dan madu kemasan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* maka dapat disimpulkan bahwa madu alami asal amfoang dan madu kemasan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Pada pengujian Perbandingan daya hambat madu alami asal amfoang dan madu kemasan secara *invitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh madu alami asal amfoang dan madu kemasan memiliki efektifitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Hasil uji beda masing-masing konsentrasi madu alami dan madu kemasan, pada konsentrasi 25% madu alami dan madu kemasan tidak terdapat perbedaan yang signifikan sedangkan pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% terdapat perbedaan yang signifikan antara madu alami asal amfoang dan madu kemaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* tersebut maka dapat disimpulkan bahwa madu alami asal amfoang dan madu kemasan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

B. SARAN

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan bakteri strain murni dangan menggunakan sampel yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Baskara, Ali Widi. 2008. *Khasiat & keajaiban Madu untuk kesehatan dan kecantikan*. Yogyakarta : Smile Books;
- C. Frans. 2008. *Sehat dengan Terapi Lebah (Apitherapy)*. Jakarta : Elex Media Komputindo;
- Fadhmi, Mudatsir, Syaokani, E. *Perbandingan daya hambat madu seulawah dengan madu trumon terhadap staphylococcus aureus secara in vitro*. Jurnal Biotik, ISSN: 2337-9812, Vol. 3, No. 1. 2015;
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's, 2007, *Mikrobiologi Kedokteran* Ed.23, EGC, Jakarta.
- Kompas. Com., 2016, *Madu Asal Timor ini Kualitasnya terbaik no. 3 di Dunia*/diakses pada 10 mei 2017.
- Melnick, Jawetz dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi kedokteran*. Jakarta : ECG
- Purbaya, J, Rio. 2007. *Mengenal & Memanfaatkan khasiat Madu alami*. Bandung: Pionir Jaya
- Suranto, Adji., 2007, *Terapi Madu*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tjay, T. H dan Kirana, R. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek sampingnya*. Edisi ke VI. Jakarta : Eleks Media Kompatindo
- Waluyo, Lud. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Edisi Revisi. UMM Press. Malang
- Wineri, Elsi, Rasyids, R. Alioes, Y. *Perbandingan daya hambat madu alami dengan madu kemasan secara in vitro terhadap Streptococcus aureus beta hemoliticus group A sebagai penyebab faringitis*. jurnal kesehatan Andalas. 2014;
- WHO. 1999. *Infections Diseases are The Biggest Killer of The Young*. <http://www.who.int/infections-disease-report/index-rpt99.htm>.

Lampiran 1. Surat ijin penggunaan Laboratorium

Kupang, Maret 2018

Hal : Permohonan Penggunaan Fasilitas Laboratorium

Yang Terhormat

Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang

Di

Kupang

Sehubungan dengan penelitian yang saya lakukan guna menyelesaikan Karya Tulis Akhir (KTA), sesuai dengan kurikulum Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang, maka saya yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Didi Putra Manu Lede

NIM : PO.530333215685

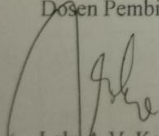
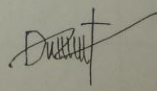
No. HP : 081338734052

Judul KTA : PERBANDINGAN DAYA HAMBAT MADU ALAMI ASAL AMFOANG DAN MADU KEMASAN SECARA *IN VITRO* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

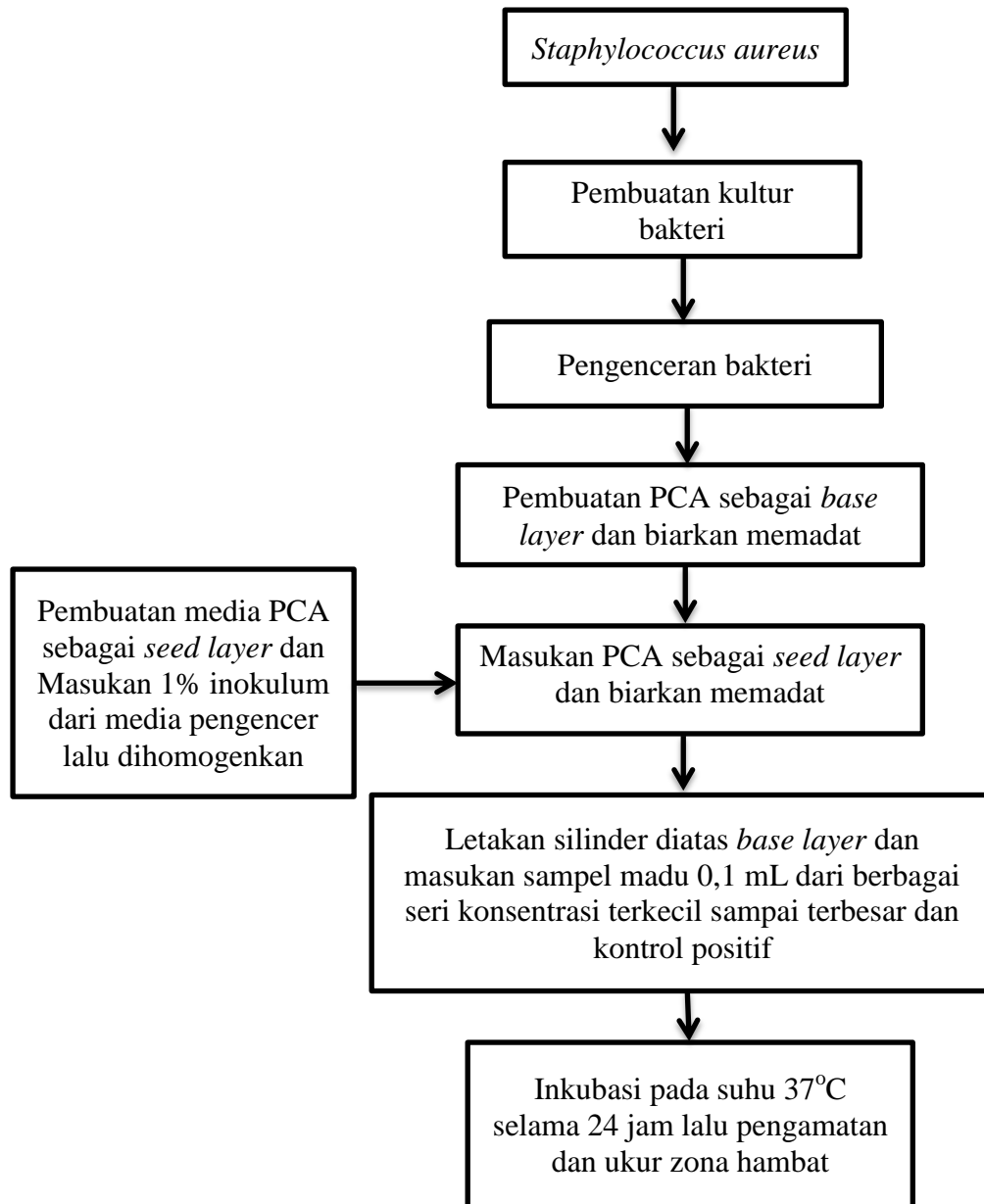
Memohon ijin kepada ibu untuk menggunakan fasilitas laboratorium di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang (terlampir).

Demikian surat permohonan ijin ini saya sampaikan. Atas perhatian dan bantuan ibu saya ucapkan terima kasih.

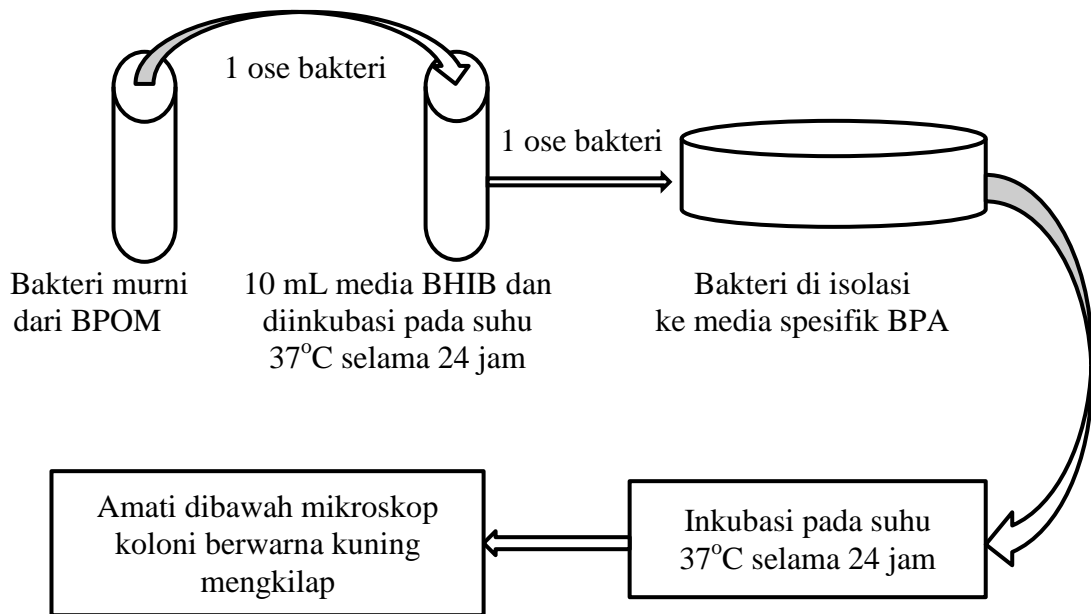
Mengetahui

<p>Dosen Pembimbing</p>  <p>Lely A. V. Kapitan, Spd., S.Farm., Apt., M.Kes NIP: 197011061989032001</p>	<p>Pemohon</p>  <p>Didi Putra Manu Lede NIM : PO.530333215685</p>
---	--

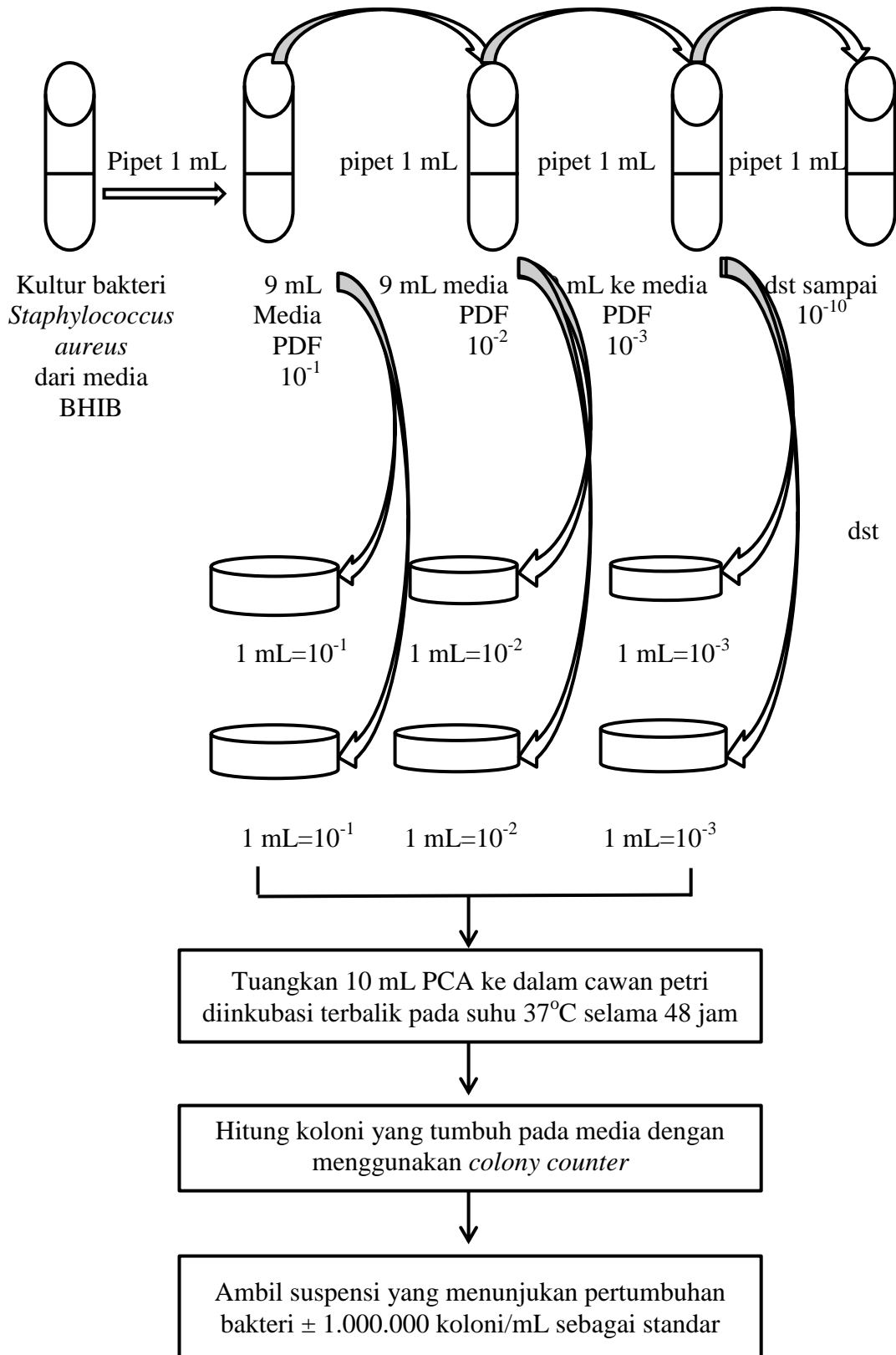
Lampiran 2. Skema Kerja Daya Hambat Madu Alami Asal Amfoang dan Madu Kemasan



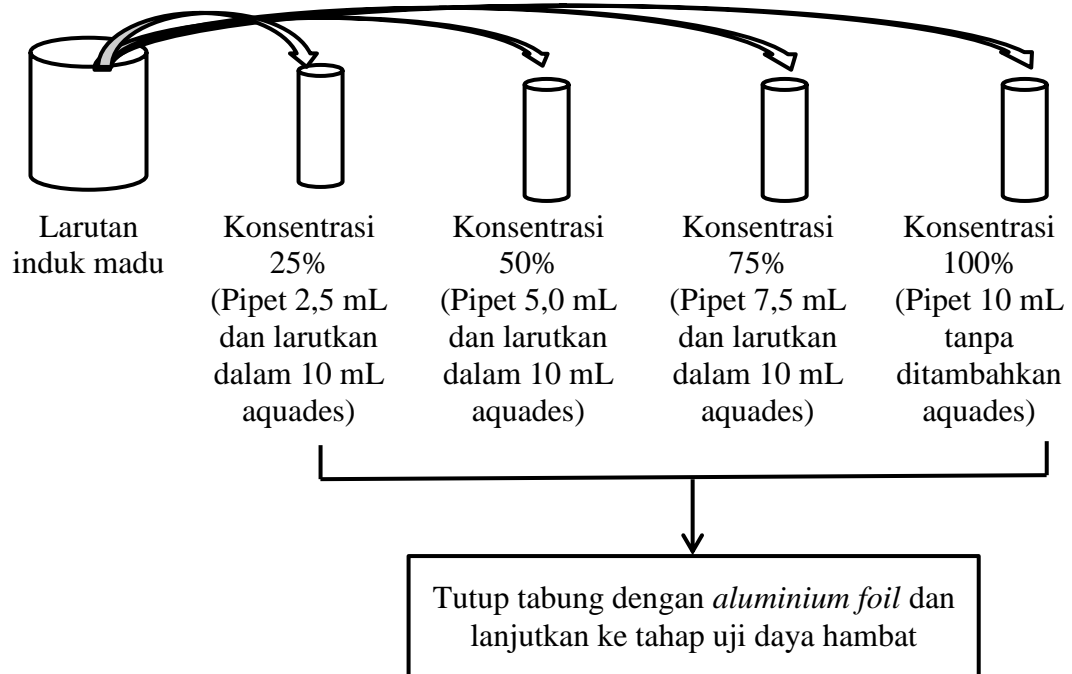
Lampiran 3. Pembuatan kultur bakteri



Lampiran 4. Pengenceran bakteri *Staphylococcus aureus*

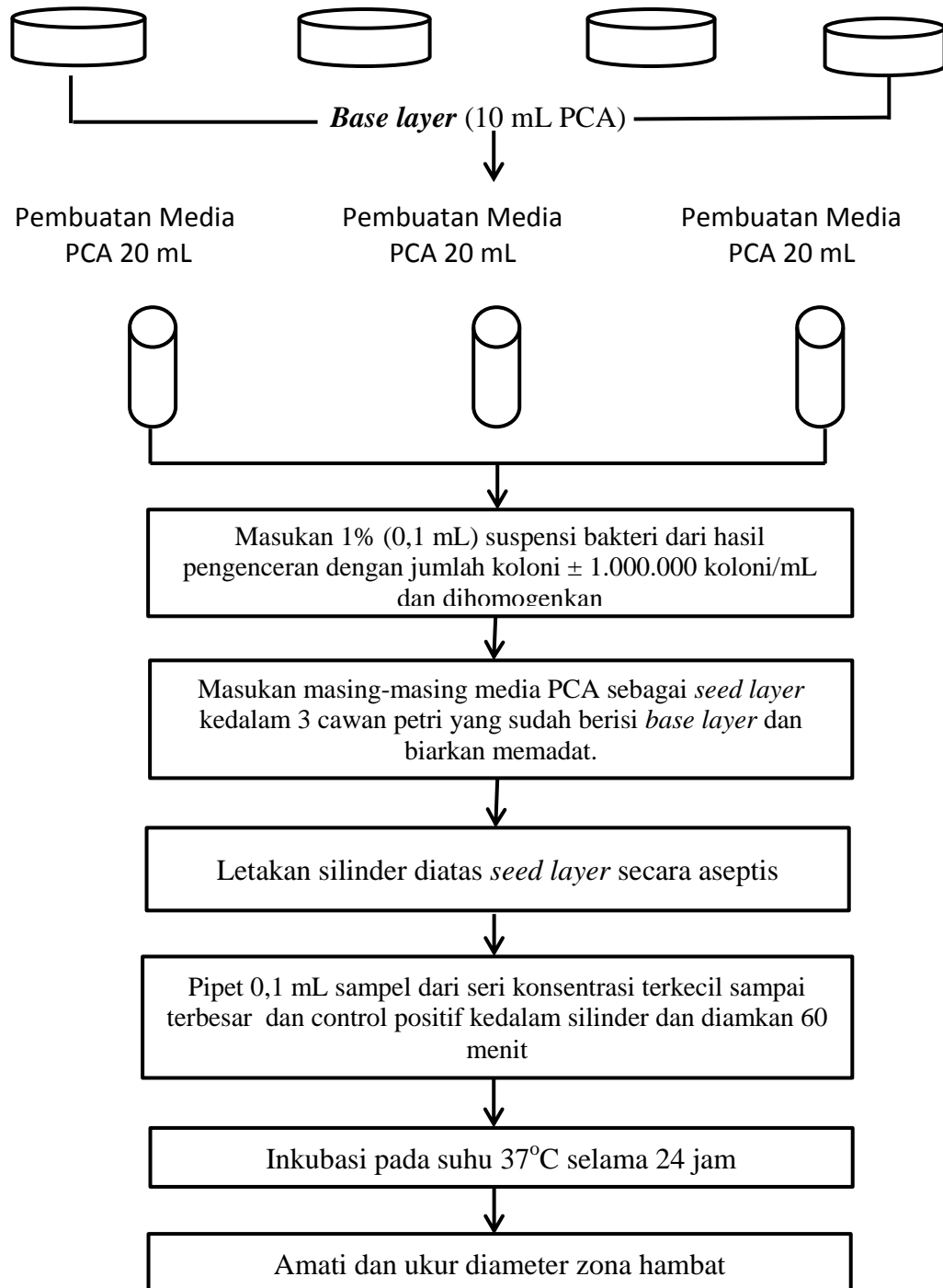


Lampiran 5. Skema pembuatan konsentrasi larutan Madu alami asal amfoang dan Madu kemasan.



Lampiran 6. Uji daya hambat Madu alami asal amfoang dan madu kemasan dengan metode Difusi Silinder

Buat 40 media PCA sebagai *base layer* untuk 3(triplo) cawan petri masing-masing 10 mL, dibiarkan memadat. 3 cawan petri untuk pengujian dan 1 cawan petri sebagai kontrol media.



Lampiran 7. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi madu alami dan madu kemasan.

1. Pembuatan larutan sampel 25%

Dibuat konsentrasi 25% dengan memipet 2,5 mL madu kemudian di masukan dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan aquades steril sampai tanda batas.

2. Pembuatan larutan sampel 50%

Dibuat konsentrasi 50% dengan memipet 5 mL madu kemudian di masukan dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan aquades steril sampai tanda batas.

3. Pembuatan larutan sampel 75%

Dibuat konsentrasi 75% dengan memipet 7,5 mL madu kemudian di masukan dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan aquades steril sampai tanda batas.

4. Pembuatan larutan sampel 100%

Dibuat konsentrasi 100% dengan memipet langsung ke dalam pecadang 0,1 mL tanpa diencerkan dengan aquades.

Lampiran 8. Komposisi media

a. Media Brain Heart Infusion Agar (BHIB)

Calf brain infusion	7,7 g
Beef heart infusion	9,8 g
Protease pepton	10 g
Dextrose	2 g
Sodium chloride	5 g
Disodium phosphate	2,5 g

Larutkan 37 g media dalam 1 liter aquades. Panaskan perlahan, bila perlu hingga benar-benar homogen. Simpan dan sterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 sampai 20 menit pH akhir $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.

b. Media Pepton Diltion Fluid (PDF)

Pepton	10 g
Sodium chloride	5 g
Phosphate buffer	10,5 g

Larutkan 25,5 g media dalam 1 liter aquadest dan panaskan. Simpan dan sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 sampai 20 menit pH akhir $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C

c. Media Plate Count Agar (PCA)

Tryptone	5 g
Yeast extract	2,5 g
Dextrose	1 g
Agar	15 g

Larutkan 22,5 g media dalam 1 liter aquadest dan panaskan. Simpan dan sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 sampai 20 menit pH akhir $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C

Lampiran 9. Perhitungan pembuatan media

1. Pemakaian media BHIB

Dibutuhkan media BHIB sebanyak 10 mL, maka

$$\frac{37 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} = 0,37 \text{ g}$$

Ditimbang 0,37 gram media BHIB dilarutkan dalam 10 mL aquadest dan dipanaskan hingga homogen. Steril dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C .

2. Pemakaian media PDF

Dibutuhkan media PDF sebanyak 150 mL, maka

$$\frac{25 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 150 \text{ mL} = 3,75 \text{ g}$$

Ditimbang 3,75 gram media BHIB dilarutkan dalam 150 mL aquadest dan dipanaskan hingga homogen. Steril dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C .

3. Pemakaian media PCA

Dibutuhkan media PCA sebanyak 600 mL, maka

$$\frac{22,5 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 600 \text{ mL} = 13,5 \text{ g}$$

Ditimbang 13,5 gram media BHIB dilarutkan dalam 600 mL aquadest dan dipanaskan hingga homogen. Steril dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C .

Lampiran 10. Hasil uji SPSS

A. Uji efektifitas *Kruskal Wallis* madu alami

	Kelompok_5	N	Mean Rank		Zona_hambat_madu_alami
Zona_hambat_madu_alami	25%	3	2.33	Chi-Square df Asymp. Sig.	9.564 3 .023
	50%	3	4.67		
	75%	3	8.33		
	100%	3	10.67		
Total		12			

B. Uji efektifitas *Kruskal Wallis* madu kemasan

	Kelompok_6	N	Mean Rank		Zona_hambat_madu_kemasan
Zona_hambat_madu_kemasan	25%	3	3.00	Chi-Square df Asymp. Sig.	8.134 3 .043
	50%	3	5.00		
	75%	3	7.00		
	100%	3	11.00		
Total		12			

C. Uji perbandingan perkonsentrasi madu alami dan madu kemasan

1. Konsentrasi 25% - 25%

Kelompok_1			Zona_hambat_1	
	N	Mean Rank		
Zona_hambat_1 Madu alami 25%	3	4.67	Chi-Square	2.333
Madu kemasan 25%	3	2.33	df	1
Total	6		Asymp. Sig.	.127

2. Konsentrasi 50% - 50%

Kelompok_2			Zona_hambat_2	
	N	Mean Rank		
Zona_hambat_2 Madu alami 50%	3	5.00	Chi-Square	3.857
Madu kemasan 50%	3	2.00	df	1
Total	6		Asymp. Sig.	.050

3. Konsentrasi 75% - 75%

Kelompok_3			Zona_hambat_3	
	N	Mean Rank		
Zona_hambat_3 Madu alami 75%	3	5.00	Chi-Square	3.857
Madu kemasan 75%	3	2.00	df	1
Total	6		Asymp. Sig.	.050

4. Konsentrasi 100% - 100%

Kelompok_4			Zona_hambat_4	
	N	Mean Rank		
Zona_hambat_4 Madu alami 100%	3	5.00	Chi-Square	3.857
Madu kemasan 100%	3	2.00	df	1
Total	6		Asymp. Sig.	.050

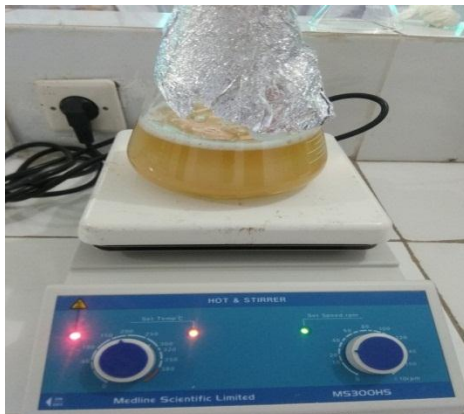
Lampiran 11. Dokumentasi pengambilan sampel dan penelitian



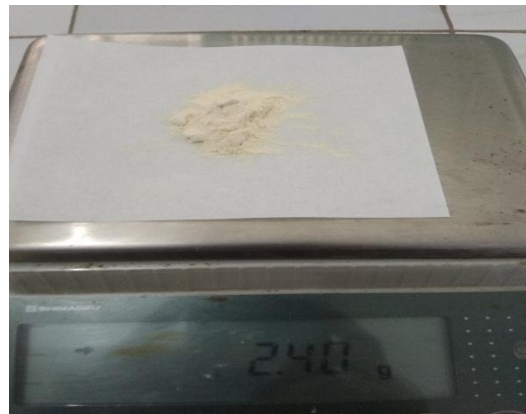
Gambar 1. Sampel madu alami asal Amfoang



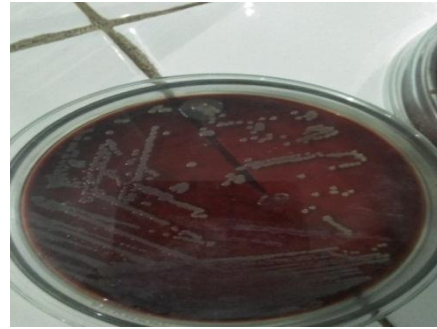
Gambar 2. Sampel madu kemasan



Gambar 3. Proses pemanas media agar



Gambar 4. Penimbangan bahan



Gambar 5. Sterilisasi alat dengan autoclave. Gambar 6. Biakan bakteri RSUD

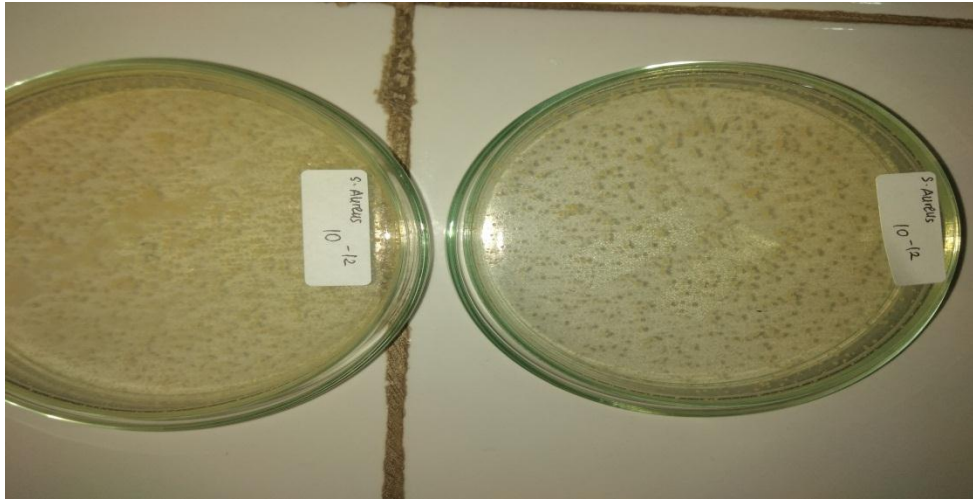


Gambar 7. Hasil peremajaan Bakteri

Gambar 8. Media Spesifik



Gambar 9. Proses Pengenceran bakteri



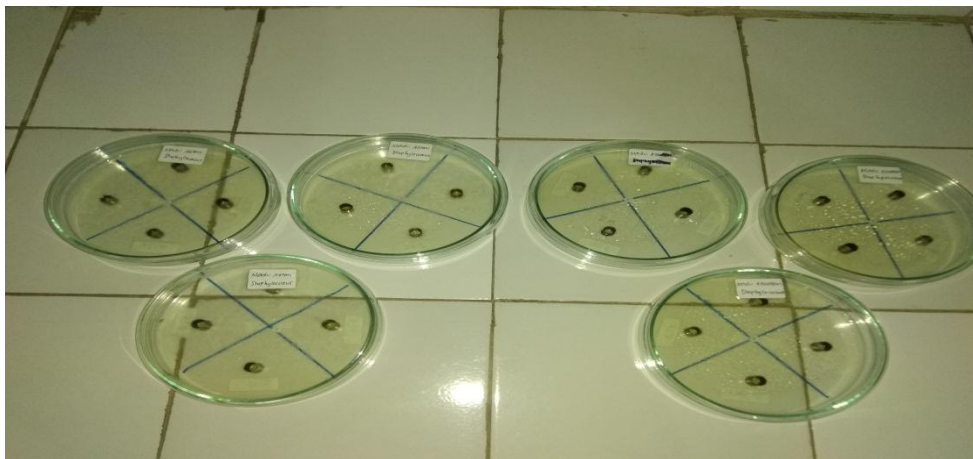
Gambar 10. Hasil pengenceran yang tidak terbaca



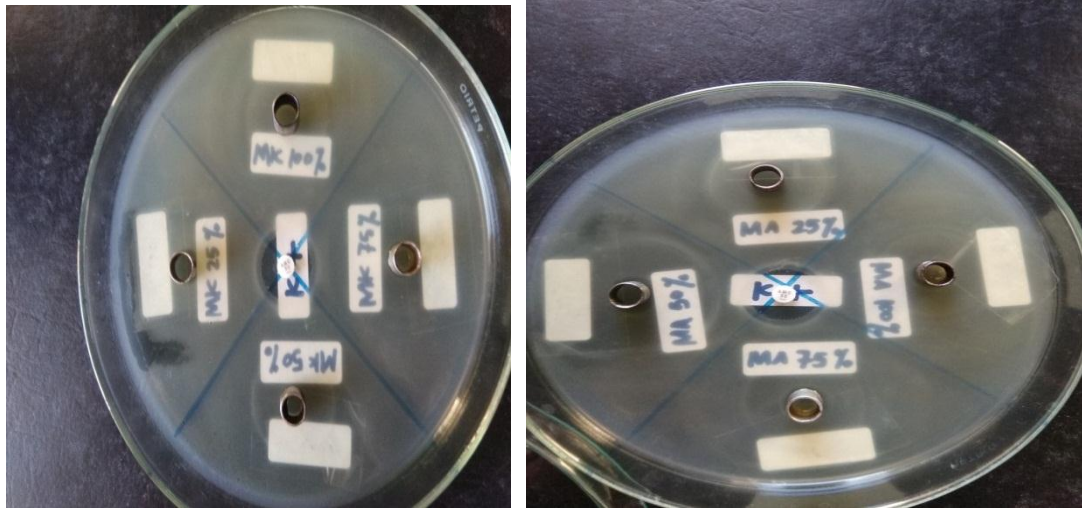
Gambar 11. Sampel madu alami



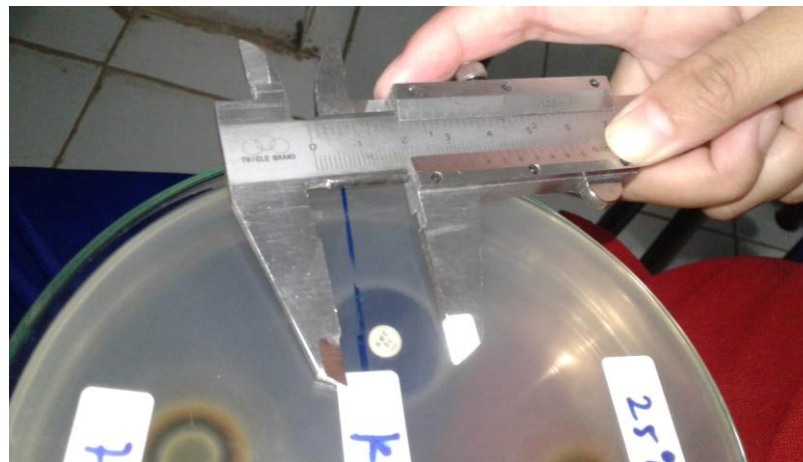
Gambar 12. Sampel madu kemasan



Gambar 13. Pengujian sampel



Gambar 14. Pengamatan zona hambat



Gambar 15. Pengukuran zona hambat control positif

Lampiran 12. Surat selesai penelitian



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG
Direktorat : Jln. Piet A. Tallo – Liliba, Telp/Fax. (0380)881880, 880880
Fax : (0380) 8553418; Email : poltekkeskupang@yahoo.com



SURAT KETERANGAN

Nomor: PP.04.03/10/ 0336 /2018

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ivonne Y. Laning, S.Farm., Apt.
NIP : 19780703 199803 2 001
Pangkat/Gol. : Penata / III c
Jabatan : Sub Sub Unit Laboratorium Program Studi Farmasi
Poltekkes Kemenkes Kupang

Menerangkan dengan sebenarnya bahwa:

Nama : Didi Putra Manu Lede
NIM : PO 530333215685

Telah selesai melaksanakan penelitian dengan judul “Perbandingan daya hambat madu alami asal Amfoang dan madu kemasan secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*” pada laboratorium Program Studi Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang mulai tanggal 29 Juni s/d 20 Juli 2018.

Demikian surat keterangan ini disampaikan agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Ketua Prodi Farmasi



Maria Hilari, S.Si., S.Farm., Apt., M.Si.
NIP 19750614 199402 2 001

Kupang, 30 Juli 2018
Sub Unit Laboratorium,

Ivonne Y. Laning, S.Farm., Apt.
NIP 19780703 199803 2 001