

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus pyogenes*

Evi Puspita Sari

STIKesInsanCendekiaMedikaJombang

email: [eps.imun17@gmail.com](mailto:eps.imun17@gmail.com)

### ABSTRAK

**Pendahuluan** *Streptococcus pyogenes* atau dikenal dengan Streptococcus beta hemoliticus group A merupakan salah satu penyebab tersering dari faringitis. Faringitis yang tidak diobati dapat menimbulkan komplikasi supuratif maupun non supuratif. Madu mengandung zat yang berguna untuk membunuh bakteri patogen penyebab penyakit infeksi. Efek antibakteri madu disebabkan oleh tingkat keasaman yang tinggi, hidrogen peroksida, tekanan osmotik yang tinggi dan adanya senyawa organik yang bersifat antibakteri. **Tujuan** Penelitian ini bertujuan mengetahui efektifitas madu dalam menghambat pertumbuhan kuman *Streptococcus pyogenes*. **Metode** penelitian ini dilakukan secara eksperimental murni laboratorium (*True Eksperimental*) dengan rancangan penelitian *Post Test only Control Group Design*. Perlakuan terdiri dari sediaan madu dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% serta kontrol positif menggunakan amoxicilin. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi padat menggunakan kertas cakram. **Hasil** Madu dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan rata-rata zona hambat masing-masing yaitu 3,7 mm, 6mm, 11,7 mm, 15,3mm dan 19 mm. **Kesimpulan** Madu mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Semakin tinggi konsentrasi madu, maka akan semakin besar daya hambat terhadap bakteri.

**Kata kunci:** Madu, *Streptococcus pyogenes*, Difusi Cakram

### ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HONEY AGAINST *Streptococcus pyogenes*

#### ABSTRACT

**Introduction** *Streptococcus pyogenes*, also known as *Streptococcus beta hemoliticus* group A, is one of the most common causes of pharyngitis. Untreated pharyngitis can cause suppurative and non-suppurative complications. Honey contains substances that are useful for killing pathogenic bacteria that cause infectious diseases. The antibacterial effect of honey is caused by high acidity, hydrogen peroxide, high osmotic pressure and the presence of antibacterial organic compounds. **Objectives** This study to determine the antibacterial activity of honey on strains *Streptococcus pyogenes*. **Methods** This research was True Experimental with Post Test only Control Group Design. Different concentrations (20 %, 40%, 60%, 80% wt/vol and Undiluted honey) of honey were studied in vitro using *Streptococcus pyogenes* and positive control using amoxicillin. Each treatment was carried out 3 repetitions. Antibacterial testing using the paper disc diffusion method. **Results** Honey with concentrations of 20%, 40%, 60%, 80% and 100% inhibits the growth of *Streptococcus pyogenes* with an average inhibition zone of 3,7 mm, 6 mm, 11,7 mm, 15,3 mm and 19 mm. **Conclusion** Honey can inhibit growth *Streptococcus pyogenes*. The Higher concentration of honey can give more stronger inhibition effect of bacteria growth.

**Keywords:** Honey, *Streptococcus pyogenes*, Disc Diffusion

## PENDAHULUAN

Faringitis atau sering dikenal sebagai radang tenggorokan merupakan salah satu penyakit yang memiliki tingkat prevalensi cukup tinggi di Indonesia dan hampir setiap individu pernah mengalaminya (Izza dan Rahayu, 2019). Faringitis merupakan infeksi yang banyak ditemukan pada unit pelayanan primer dan dapat mengenai semua usia. Faringitis menjadi alasan sekitar 1,3% pasien rawat jalan untuk datang mengunjungi rumah sakit dan tercatat sekitar 15 juta kunjungan pasien pada tahun 2006 di Amerika Serikat. Cara penularan faringitis yaitu melalui sekret pada saluran nafas bagian atas yang terhirup (Wineri, Rasyid & Alioes, 2014). Radang tenggorokan (faringitis) termasuk penyakit infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes* atau dikenal dengan *Streptococcus* beta hemoliticus group A (Sumarya, Suarda, dan Sudaryati, 2019).

Bakteri *Streptococcus pyogenes* merupakan spesies dari streptococcus yang paling patogen pada manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai masalah klinis, mulai dari faringitis hingga infeksi invasif parah karena memiliki berbagai protein eksotoksin, superantigen dan protein pada dinding sel serta berbagai faktor virulensi lain (Terao, 2012). Terjadinya kematian akibat infeksi *S. pyogenes* cukup tinggi, yaitu lebih dari 25% dan diperkirakan setidaknya terjadi sebanyak 650.000 kasus setiap tahun (Fieber & Kovarik, 2014).

Pengobatan faringitis dalam kehidupan sehari-hari sering menggunakan obat antibiotik seperti amoxicillin dan siprofloksasin (Sujonodkk, 2019). Penggunaan antibiotik yang sering dan tidak teratur dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik, sehingga jika timbul infeksi kembali tidak dapat diobati dengan antibiotik yang sama,

atau harus dalam dosis yang lebih tinggi (Marhamah, 2017). Penggunaan bahan alam sebagai obat herbal dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern karena efek samping obat herbal relatif kecil jika digunakan secara tepat (Lolita, 2015).

Aktivitas antibakteri madu telah dikenal sejak tahun 1999 oleh Cooper, Mohan dan Harding mengenai efek antibakteri (Yuliati, 2017). Madu mengandung zat yang berguna untuk membunuh bakteri patogen penyebab penyakit infeksi. Efek antibakteri ini disebabkan oleh adanya senyawa radikal hidrogen peroksida dan adanya senyawa organik yang bersifat anti bakteri (Endriani dan Hamidy, 2015). Madu bersifat asam dengan pH antara 3,2-4,5 sehingga dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen. Sifat antibakteri dari madu juga berasal dari efek osmotik dari kadar gula yang tinggi dan kadar air yang rendah. Penelitian yang telah dilakukan pada madu manuka (*L. scoparium*) terbukti efektif melawan beberapa pathogen manusia seperti *E. coli*, *E. aerogenes*, *Salmonella*, *S. aureus* (Mandal, 2011). Berdasarkan hasil penelitian telah diketahui bahwa madu memiliki aktivitas antibiotik spektrum luas untuk melawan bakteri patogen. Sifat hidroskopik yang dimiliki madu dapat menarik air dari lingkungan hidup bakteri yang mengakibatkan bakteri mengalami dehidrasi (Wineri, Rasyid dan Alioes, 2014).

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratorium (*True Eksperimental*) dengan rancangan *Post Testonly Control Group Design*. Perlakuan terdiri dari madu dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kontrol positif menggunakan amoxicilin dan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan. Bakteri *Streptococcus pyogenes* yang digunakan berasal dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ose steril, cawan petri, tabung reaksi, inkubator, labu erlenmeyer, autoklaf, tabung reaksi, lampu bunsen, kapas lidi steril, meja kerja laminary flow, neraca analitik, skalpel, pinset steril, pipet steril, dan aluminium foil. Bahan-bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat klinis kuman *S. Pyogenes*, madu hutan murni, paper disk amoxicilin, paper disk kosong steril, media MHA (*Mueller Hinton Agar*), media NA, akuades steril, dan NaCl 0,9%.

### Sterilisasi Alat dan Media

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah media *Muller Hilton Agar* (MHA) yang digunakan sebagai media uji antibakteri. Media MHA dan seluruh alat gelas yang digunakan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C, selama 15 menit dan tekanan 1 atm.

### Pembuatan Suspensi Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Disiapkan larutan standar McFarland 0.5 yang telah dibuat. Suspensi bakteri diambil dari biakan bakteri dengan cara mengambil 4-10 ose bakteri dari media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl 0,9% dan dihomogenkan. Suspensi bakteri tersebut dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland 0.5. Suspensi yang telah dibuat diperoleh kepadatan bakteri yang diuji yaitu  $10^8$  CFU/mL (Erywiyatno, Djoko & Kriharyani, 2012).

### Penanaman bakteri *Streptococcus pyogenes*

Penanaman bakteri *Streptococcus pyogenes* dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *Streptococcus pyogenes* ke dalam cawan petri yang berisi media MHA yang sudah ditambah 5% darah manusia.

### Pembuatan Sediaan Madu

Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu murni yang berasal dari hasil peternakan lebah dari hutan Wonosalam yang menggunakan lebah spesies *Avis melivera*. Madu sebanyak 100 ml dibuat beberapa konsentrasi perlakuan yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% (b/v). Selanjutnya cakram kosong (*oxoid*) direndam selama 3 jam dalam masing-masing sediaan madu yang sudah ditentukan konsentrasinya, kemudian ditanam pada cawan petri yang berisi media agar dan telah dioleskan *Streptococcus pyogenes*, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

### Uji Efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*

Pengujian efektivitas anti bakteri dilakukan dengan menggunakan cakram kosong (*oxoid*) berdiameter 5 mm yang sudah berisi masing-masing sediaan dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Kontrol negatif digunakan cakram disk yang direndam ke dalam aquadest steril dan kontrol positif digunakan cakram disk antibiotik amoxicillin. Masing-masing cakram tersebut diletakkan pada media MHA dengan 5% darah manusia yang sudah ditanami bakteri *Streptococcus pyogenes*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Efektifitas antibakteri dapat dilihat dari panjang diameter yang terbentuk berupa zona bening yang terbentuk disekitar cakram yang diukur dengan menggunakan jangka sorong. Setelah diukur, diklasifikasikan berdasarkan klarifikasi respon hambat menurut *Greenwood*. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3kali.

### Analisis Data

Hasil yang diperoleh dianalisis dengan Pengolahan data dimulai dengan uji normalitas dan homogenitas varian untuk mengetahui apakah terdapat data yang berbeda secara bermakna. Jika memenuhi syarat ( $p > 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan

uji ANOVA untuk melihat perbedaan secara bermakna dua kelompok atau lebih pengaruh madu terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Kemudian dilakukan uji analisis LSD (*Least Significant Different*) untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antara perlakuan.

**HASIL PENELITIAN**

Penelitian uji efektivitas madu sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes* dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi padat dengan cakram disc melalui pengukuran zona hambat yang terbentuk pada media agar dengan satuan millimeter. Aktivitas antibakteri dari sediaan madu dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% (tanpa pengenceran) dalam penelitian ini ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1 Diameter Zona Hambat Madu Terhadap *Streptococcus pyogenes*

Uji ke	Konsentrasi Madu (%)					K(+)	K(-)
	20	40	60	80	100		
1	4	7	12	16	19	29	0
2	5	8	14	15	21	32	0
3	4	5	13	15	17	33	0
Total	11	18	35	46	57	94	0
Mean	3,7	6	11,7	15,3	19	31,3	0

Sumber : Data Primer 2019

Pada hasil pengukuran aktivitas anti bakteri madu terhadap *S. pyogenes* didapatkan diameter zona hambat paling efektif adalah pada konsentrasi madu 100%. Berdasarkan klasifikasi menurut Green Wood (1995) daya hambat pada konsentrasi madu 20% dan 40% adalah negatif (tidak memiliki daya hambat) karena zona hambat bakteri pada konsentrasi tersebut adalah <10mm. Pada madu dengan konsentrasi 60% menunjukkan daya hambat bakteri lemah, sedangkan pada konsentrasi 100% zona hambat bakteri sedang. Pada control positif menunjukkan daya hambat kuat yaitu lebih dari 20 mm.

Berdasarkan data hasil pengukuran aktivitas anti bakteri madu terhadap *S. pyogenes* pada Tabel 1 dapat dikatakan

bahwa zona hambat yang terbentuk pada setiap kelompok perlakuan berbeda, maka selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui pengaruh konsentrasi madu terhadap zona hambat yang terbentuk. Pada hasil uji *One Way Anova* didapatkan nilai F hitung 6,705 yang lebih besar dari F tabel, maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti terdapat pengaruh konsentrasi madu terhadap diameter zona hambat bakteri yang terbentuk. Hasil uji tersebut selanjutnya dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*) dan menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk antar kelompok perlakuan berbeda nyata dengan signifikansi 95%.

**PEMBAHASAN**

Hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa madu memiliki aktivitas anti mikroba dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* yang signifikan. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan maka dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu, maka daya hambat yang terbentuk semakin besar terhadap bakteri *S. Pyogenes*.

Madu merupakan produk alami, tidak beracun, dan murah untuk digunakan sebagai terapi baru dalam melawan infeksi bakteri. Penggunaan madu secara klinis memiliki potensi yang sangat besar, terutama dalam membunuh strain kuman yang kebal terhadap antibiotik (Huttunen, Riihinen, Kauhanen, Tikkanen-Kaukanen, 2013).

Saat ini, banyak peneliti telah menemukan bahwa madu alami yang tidak dipanaskan memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas. Sifat antibakteri madu tergantung pada berbagai faktor. Beberapa faktor yang paling menonjol adalah  $H_2O_2$ , senyawa fenolik, pH madu dan tekanan osmotik dari madu. Hidrogen peroksida merupakan contributor utama dalam aktivitas antimikroba dari madu, sehingga perbedaan konsentrasi senyawa ini dapat memberikan efek antimikroba yang

berbeda (Moussa, A., Nouredine, D., Abdel melek, M., & Saad, A).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa madu mampu menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*. Hasil penelitian Wineri, Rasyid & Alioes (2014) menunjukkan bahwa madu mampu menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa madu alami memiliki efektivitas menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* lebih besar dibanding madukemasan. Hal tersebut bisa disebabkan karena madu kemasan mengalami pengenceran. Madu yang mengalami pengenceran akan mudah menyebar pada agar bakteri, sehingga efek antibakteri tidak seoptimal madu alami, selain itu pengenceran dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan menurunkan kadar gula di dalam madu.

Hasil penelitian Moussa, A., *et al* (2012) didapatkan bahwa semua jenis madu yang diuji memiliki aktivitas bakteriostatik dan bakterisidal yang bervariasi, dan tidak ada isolat yang tahan terhadap sampel madu yang diuji. Penelitian tersebut menguji efektivitas madu terhadap beberapa bakteri antara lain *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli* dan *P. Mirabilis*.

Madu adalah larutan yang lebih jenuh dari gula dengan kandungan air hanya sekitar 15-21% dari beratnya. Padatan pada madu adalah 84% yang merupakan campuran dari monosakarida, yaitu fruktosa dan glukosa. Interaksi yang kuat dari molekul-molekul gula-gula tersebut dengan molekul air menghasilkan molekul air yang tersedia untuk mikroorganisme sangat sedikit. Mikroorganisme akan kehilangan air dari proses osmosis ini dan akan mengalami dehidrasi sehingga dapat membunuh mikroorganisme tersebut (Nadhilla, 2014). Faktor yang lain adalah karena kandungan nutrisi dan gizi yang terdapat dalam madu sehingga mampu meningkatkan imunitas tubuh apabila digunakan secara *in vivo*. Madu banyak mengandung vitamin B2, B3, B6, C, K, karoten, biotin, dan lain-lain. Bahan-bahan tersebut dapat meningkatkan imunitas tubuh terhadap infeksi bakteri. Faktor-faktor antimikroba

tersebut tidak menutup kemungkinan juga diperkuat oleh faktor-faktor lain dalam madu yang mendukung sifat antimikroba madu (Yuliati, 2017).

Kandungan flavonoid dalam madu mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri, selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Mekanisme flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri yaitu berawal dari adsorpsi melalui ikatan hidrogen. Kadar rendah fenol mengakibatkan terbentuknya ikatan kompleks protein fenol yang lemah kemudian diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan mengakibatkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol dapat menyebabkan koagulasi protein dan lisisnya membran sitoplasma sel (Erywiyatno, Djoko & Kriharyani, 2012).

## KESIMPULAN

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa madu mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Semakin tinggi konsentrasi madu, maka akan semakin besar daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan analisa masing-masing senyawa dalam madu serta melakukan pengujian efektivitas secara *in vivo* menggunakan hewan coba.

## KEPUSTAKAAN

- Endriani, R. and Hamidy, M.Y. (2017). Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Madu terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*. *JIK (Jurnal Ilmu Kedokteran)*, 3(2).
- Erywiyatno, L., Djoko, S. S. B. U., & Kriharyani, D. (2012). Pengaruh madu terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Analisis Kesehatan Sains*, 1(1), 30-7.
- Fieber, C dan Kovarik, P. (2014). Responses of innate immune cells to group A *Streptococcus*. *Frontiers in*

- cellular and infection microbiology*, 4, 140.
- Huttunen, S., Riihinen, K., Kauhanen, J., & Tikkanen-Kaukanen, C. (2013). Antimicrobial activity of different Finnish monofloral honeys against human pathogenic bacteria. *Apmis*, 121(9), 827-834.
- Mandal M dan Mandal S. (2011). Honey : Its Medicinal Property and Antibacterial Activity. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*. 1(2): 154-160
- Marhamah, M., 2017. Pengaruh Waktu Kontak Dan Konsentrasi Rebusan Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Pertumbuhanbakteri *Streptococcus pyogenes* Penyebab Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA). *Jurnal Ilmiah Keperawatan Sai Betik*, 10(2), pp.264-269.
- Moussa, A., et al (2012). Antibacterial activity of various honey types of Algeria against Pathogenic Gram-Negative Bacilli: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(3), 211-214.
- Nadhilla, N. F. (2014). The activity of antibacterial agent of honey against *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Majority*, 3(7).
- Soedarto, (2015), Mikrobiologi Kedokteran, Sagung Seto : Jakarta
- Sujono, Hdkk, (2019), Antibacterial Activity of the Essential Oil from Betel leaf (*Piper betle L.*) against *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kartika Kimia*, 2(1), pp.30-36.
- Sumarya, I.M., Suarda, I.W. and Sudaryati, N.L.G., Aktivitas Antibakteri Loloh (Obat Tradisional Bali) Air Perasan dan Air Rebusan Daun Sirih terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Penyebab Radang Tenggorokan. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(5), pp.173-178.
- Terao, Y. (2012). The virulence factors and pathogenic mechanisms of *Streptococcus pyogenes*. *Journal of Oral Biosciences*, 54(2), 96-100.
- Wineri, E., Rasyid, R., & Alioes, Y. (2014). Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan secara In Vitro terhadap *Streptococcus beta hemoliticus Group A* sebagai Penyebab Faringitis. *Jurnal Lolita*
- Lolita B, P., 2015. *Daya Antibakteri Air Perasan Buah Lemon (Citrus limon (L.) Burm. f.) terhadap Porphyromonas gingivalis Dominan Periodontitis (In Vitro)* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Yuliati, Y. (2017). Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk Diffusion. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 11(1).
- Wineri, E., Rasyid, R., & Alioes, Y. (2014). Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan secara In Vitro terhadap *Streptococcus beta hemoliticus Group A* sebagai Penyebab Faringitis. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3).
- Zen, N. A. M., de Queljoe, E., & Singkoh, M. (2015). Uji Bioaktivitas Ekstrak *Padina australis* Dari Pesisir Pantai Molas Sulawesi Utara Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 3(2), 34-40.