

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU TRIGONA TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli dan *Klebsiella pneumoniae***

**Endang Sulistyarini Gultom^{1*)}, Selvia Dewi Pohan²⁾, Minda Sari Lubis³⁾, Nurbaity
Situmorang⁴⁾, Rini Hafzari⁵⁾**

^{1) 2) 4) 5)}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan,
Sumatera Utara, Indonesia

³⁾Program Studi Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al Wasliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia
*e-mail: endanggultom@unimed.ac.id

(Received 21 Januari 2025, Accepted 31 Januari 2025)

Abstract

Antibiotic resistance has the greatest impact on human health, at least 2 million people are infected by antibiotic-resistant bacteria. The use of natural medicines is increasingly in demand by the public, one of which is often used to treat diseases is trigona honey. This study aims to determine the antibacterial activity of Trigona honey against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteria. The test bacteria used were Multidrug Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteria obtained from the collection of the Microbiology Laboratory of the University of North Sumatera Hospital. Antimicrobial activity testing was carried out using the hole / well diffusion method on Mueller Hinton Agar (MHA) media with chloramphenicol as a positive control, acetone as a negative control and trigona honey with a concentration of 500 ppm. Antibacterial activity was seen by measuring the inhibition zone formed. The results showed that Trigona honey was able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteria with inhibition zone activity included in the weak category, while the positive control showed antibacterial activity in the strong category.

Keywords: Trigona, Antibacterial, Escheria coli, Klebsiella pneumoniae.

Abstrak

Resistensi antibiotik memiliki pengaruh paling besar terhadap kesehatan manusia, setidaknya 2 juta orang terinfeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Penggunaan obat dari bahan alami semakin banyak diminati masyarakat, salah satunya yang sering dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit adalah madu trigona. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu Trigona terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri uji yang digunakan merupakan bakteri Multidrug Resistant *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* yang didapatkan dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Universitas Sumatera Utara. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi lubang / sumuran pada media Mueller Hinton Agar (MHA) dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif, aseton sebagai kontrol negatif dan madu trigona dengan konsentrasi 500 ppm. Aktivitas antibakteri dilihat dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa madu Trigona mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan aktivitas zona hambat termasuk dalam kategori lemah, sedangkan untuk kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri dalam kategori kuat.

Kata Kunci: Trigona, Antibakteri, Escheria coli, Klebsiella pneumoniae

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi adalah salah satu masalah kesehatan utama di negara berkembang termasuk Indonesia (Mutsaqof et al., 2015). Pemberian antibiotik adalah cara yang paling sering dilakukan untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik yang masif untuk penanganan penyakit infeksi dapat menyebabkan

bakteri beradaptasi membentuk kekebalan terhadap antibiotik yang disebut resistensi antibiotik (Anggraini et al., 2020).

Resistensi antibiotik memiliki pengaruh paling besar terhadap kesehatan manusia, setidaknya 2 juta orang terinfeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan setidaknya 23.000 orang meninggal setiap tahun sebagai akibat langsung dari infeksi tersebut (Frieden, 2013). Multidrug-resistant (MDR) merupakan suatu keadaan di mana bakteri resisten terhadap minimal satu jenis antibiotik dari ≥ 3 golongan antibiotik (Magiorakos et al., 2012). MDR dapat terjadi karena beberapa hal antara lain pemakaian antibiotik dengan dosis yang tidak tepat, diagnostik tidak tepat ataupun bakteri penyebab tidak tepat. Estiningsih et al. (2016) melaporkan bahwa 98% isolat bakteri yang diisolasi dan diidentifikasi dari bangsal Neonatal Intensive Care Unit (NICU) RSUP dr. Soeradji Tirtonegoro merupakan kategori bakteri MDRO, antara lain *Klebsiella* sp, *Serratia* sp, *Enterobacter* sp, *Acinetobacter* dan *Edwardsiella* sp (diurutkan dari proporsi tertinggi ke terendah). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang sering kali memiliki mekanisme resistensi terhadap berbagai antibiotik. Bakteri ini memiliki mekanisme resistensi bawaan dan dapat mewariskan materi genetik yang memungkinkan bakteri lain menjadi resisten terhadap obat. Oleh karena itu, *Escherichia coli* dimasukkan sebagai patogen kritis oleh WHO pada tahun 2017 (Mancuso, 2021)

Bahan alami yang terdapat di alam dapat digunakan sebagai alternatif antibiotik untuk masalah MDRO. Penggunaan obat dari bahan alami semakin banyak diminati masyarakat (Jo, 2016). Bahan alami yang secara tradisional sering dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit adalah madu. Madu trigona adalah jenis madu yang dikenal memiliki beragam manfaat kesehatan oleh masyarakat. Madu trigona merupakan madu yang dihasilkan oleh lebah tanpa sengat (stingless bee honey). Berdasarkan hasil sebuah penelitian, madu trigona memiliki sifat-sifat terapi (therapeutic properties) dengan konsentrasi yang lebih besar dan efektif dibandingkan madu lebah Eropa (European bee honey) (Zulkhairi et al., 2018). Madu trigona (klanceng) memiliki kandungan zat aktif dan sifat antibakteri yang dapat membunuh *Escherichia coli* dan digunakan sebagai antidiare (Astawa dkk., 2023). Pemberian madu pada balita diare akut dengan intensitas diare ringan dan diare sedang dapat menurunkan frekuensi diare karena kandungan mineral madu yang berperan sebagai penyeimbang elektrolit pada usus besar (Nisa dkk., 2020).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu Trigona terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* yaitu dengan cara melihat perbedaan daya hambat bakteri dari madu Trigona terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, timbangan analitik, spatula, gunting, cawan petri, jarum ose, *cotton swab* steril, pinset, bunsen, lemari pendingin, laminar *air flow*, autoklaf, mikrotube, pipet mikro, jangka sorong, kertas label, plastik wrap, aluminium foil, tisu, kapas, kaca objek, kertas coklat, kertas cakram, isopad, vortex, tabung ependorf, tabung spin column, termoblock, alat PCR dan alat elektroforesis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tiga jenis madu multiflora. Pengambilan sampel madu Multiflora dilakukan di Taman Nasional Hutan Tesso Nilo, Indragiri Hulu, Segati, Kabupaten Pelalawan, Riau. Bakteri uji MDR (Multidrug Resistant) *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* yang didapatkan dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Universitas Sumatra Utara.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk uji zona hambat adalah Muller Hinton Agar (MHA). MHA digunakan karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk kultur mayoritas jenis bakteri. Selain itu MHA juga bersifat netral (tidak mempengaruhi difusi cakram), sehingga tidak menimbulkan pengaruh terhadap prosedur uji antibakteri (Utomo dkk, 2018).

Media MHA dibuat dengan cara melarutkan 38 gram bubuk MHA dalam 1 L akuades steril kemudian dipanaskan dengan menggunakan isopad hingga mendidih. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Setelah disterilisasi dimasukkan ke dalam setiap cawan petri sebanyak 15-20 mL yang akan digunakan sebagai medium dalam uji antibakteri (Hudaya *et al.*, 2014).

Uji Aktivitas Antibakteri

Masing-masing bakteri uji *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* diambil menggunakan *cotton swab* lalu diinokulasi pada cawan petri berisi media MHA yang telah padat dengan metode cawan gores (*streak plate*). Penggoresan dilakukan dengan sangat rapat untuk memastikan goresan menutupi seluruh permukaan media MHA. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode yang dimodifikasi mengacu pada Cappucino dan Sherman (2001). Setelah suspensi bakteri dioleskan, tunggu sampai media mengeras. Selanjutnya dibuat 5 (lima) lubang sumuran menggunakan alat pelubang pada media dan injeksikan pada masing – masing lubang tersebut sebanyak 20 µl aseton sebagai kontrol negatif, *chloramphenicol* sebagai kontrol positif, dan madu trigona dengan konsentrasi 500 ppm.

Pengamatan dilakukan setelah 1 x 24 jam inkubasi pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat dan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong digital. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan mikroba dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤ 5	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
≥ 20	Sangat Kuat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, madu Trigona memiliki aktivitas antibakteri, yang terlihat dari adanya zona hambat yang terbentuk pada media pertumbuhan masing – masing bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Nilai pengukuran zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri madu trigona terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* bervariasi. Hasil uji dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu Trigona Terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*

Sampel	<i>Escherichia coli</i>	Potensi	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Potensi
Multiflora	3,75	Lemah	3,425	Lemah
Trigona Kuning	3,95	Lemah	2,625	Lemah
Trigona Hitam	2,825	Lemah	3	Lemah
Kontrol +	17,15	Kuat	13,05	Kuat

Kontrol -	0	Tidak efektif	0	Tidak efektif
-----------	---	---------------	---	---------------

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa, madu trigona dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*, tetapi memiliki kategori nilai hambat dengan potensi lemah terhadap kedua bakteri. Nilai rata-rata zona hambat yang paling besar didapatkan pada uji aktivitas antibakteri sampel madu trigona kuning terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 3,95 mm, tetapi potensinya masih dalam kategori lemah jika dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan *chloramphenicol* dengan luas zona hambat 17,15 mm dan kategori potensi kuat. Lemahnya potensi madu trigona dalam menunjukkan zona hambat terhadap keseluruhan bakteri uji diduga dikarenakan rendahnya konsentrasi madu trigona yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Lutpiatina (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol propolis lebah kele (*Trigona* spp.) menunjukkan variasi zona hambat terhadap bakteri *S.aureus*. Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi terendah 20%, sampai 100% berturut-turut 6,4; 10; 12,6; 14,4; 16,4 mm. Semakin tinggi konsentrasi, maka aktivitas antibakteri dari ekstrak propolis semakin baik, begitu juga sebaliknya jika tingkatan konsentrasi semakin rendah, maka aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri semakin rendah. Pada pengujian aktivitas antibakteri madu trigona hanya menggunakan konsentrasi 500 ppm, konsentrasi tersebut lebih kecil, sehingga rata-rata zona hambat yang dihasilkan juga lebih kecil dengan kategori potensi lemah.

Hasil penelitian Saleng *et al.* (2016) yang melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak propolis *Trigona incisa* terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik pada ekstrak madu *Trigona incisa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia* adalah 70% dengan zona hambat 11,18 mm (kategori kuat). Hal ini berarti bahwa diperlukan konsentrasi madu Trigona yang tinggi untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia*. Penelitian lainnya dilaporkan oleh Wardoyo *et al.* (2024), bahwa hasil uji aktivitas antibakteri propolis madu putih pada berbagai konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75% dan 100% tidak mampu menghambat pertumbuhan dari *Escherichia coli*. Adapun diameter zona hambat pada keseluruhan konsentrasi adalah sebesar 0 mm.

Selain faktor konsentrasi sampel, aktivitas antibakteri dari suatu sampel dapat juga dipengaruhi oleh faktor jumlah, dan jenis bakteri yang diuji. *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* merupakan kelompok bakteri gram negatif. Hal ini dimungkinkan karena struktur dinding sel bakteri gram negatif memiliki struktur yang relatif kompleks, yaitu terdiri dari lapisan luar lipopolisakarida, lapisan tengah lipoprotein dan lapisan dalam peptidoglikan sehingga senyawa antimikroba lebih sulit masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Lutpiatina, 2015). Bakteri gram negatif memiliki struktur spesifik yang disebut enzim hidrolitik. Enzim ini diduga dapat memecah komponen aktif dari madu trigona yaitu artepilin (Przybylek, 2019). Seperti diketahui bahwa artepilin merupakan salah satu komponen aktif pada madu trigona yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dengan adanya enzim hidrolitik yang terkandung pada bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*, menyebabkan melemahnya kemampuan madu trigona dalam menghambat pertumbuhan bakteri kedua bakteri tersebut.

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar jika dibandingkan dengan masing-masing sampel madu trigona, yaitu 13,05 mm pada bakteri *Klebsiella pneumonia* dan 17,15 mm pada bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut dikarenakan kloramfenikol merupakan zat antibakteri murni dengan sifat bakteriostatik sehingga dapat secara kuat menghambat pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein mikroba (Katzung, 2010). Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa daya antibakteri yang terkandung dalam madu trigona tidak efektif jika dibandingkan dengan kontrol positif.

Suatu bahan antibakteri alami dapat dikatakan efektif apabila dalam konsentrasi rendah, zat/bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebanding dengan kemampuan standar antibiotika (kontrol positif) yang digunakan (Lestari, 2020). Dalam penelitian ini diketahui bahwa potensi madu trigona dalam menghambat kedua bakteri termasuk kategori lemah, dimana pada kontrol positif dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri dengan potensi kuat.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tentang uji aktivitas antibakteri madu Trigona terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* dapat disimpulkan bahwa madu Trigona mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan aktivitas zona hambat termasuk dalam kategori lemah, sedangkan untuk kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri dalam kategori kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Astawa, I. K., Arsana, I. N., & Wahyudi, I. W. (2023). Daya Hambat Madu Lebah Klanceng (*Trigona laeviceps*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Widya Biologi*, 72-82.
- Anggraini, W., Candra, T. M., Maimunah, S., & Sugihantoro, H. (2020). Evaluasi kualitatif penggunaan antibiotik pada pasien Infeksi saluran kemih dengan metode Gyssens. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 2(1), 1-8.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., & Nuryastuti, T. (2016). Identifikasi infeksi multidrug-resistant organisms (MDRO) pada pasien yang dirawat di bangsal neonatal intensive care unit (NICU) rumah sakit. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi (Journal of Management and Pharmacy Practice)*, 6(3), 243-248.
- Frieden, T. (2013). The Threat of Antibiotic Resistance, dalam: *Antibiotic Resistance Threats in The United States*. US Department of Health and Human Services, United States.
- Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak air bunga kecombrang terhadap bakteri *e. coli* dan *s. aureus* sebagai bahan pangan fungsional. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 7(1), 9-15.
- Jo, N. (2016). Studi tanaman khas Sumatera Utara yang berkhasiat obat. *Jurnal Farmanesia*, 3(1), 11-21.
- Lestari, A. L. D., & Permana, A. (2020). Daya hambat propolis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pro-Life*, 7(3), 237-250.
- Lutpiatina, L. (2015). Efektivitas ekstrak propolis lebah kelulut (*trigona spp*) dalam menghambat pertumbuhan salmonella typhi, staphylococcus aureus dan candida albicans. *Jurnal Skala Kesehatan*, 6(1).
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18: 268–281.
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. *Pathogens*, 10(10), 1310.
- Mutsaqof, A. A. N. (2015). Sistem pakar untuk mendiagnosis penyakit infeksi menggunakan forward chaining. *Jurnal ITSMART*, 4(1), 43-47.
- Nisa, N. K., Khotimah, K., & Zuliani, Z. (2020). Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Diare Pada Remaja Di Asrama As'adiyah Pondok Pesantren Darul'ulum Jombang. *Jurnal EDUNursing*, 4(1), 24-28.

- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.
- Saleng, A., Syafrizal, S., & Sari, Y. P. (2017). Uji aktivitas antibakteri ekstrak propolis lebah *Trigona incisa* terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* dan *Staphylococcus aureus*. *BIOPROSPEK: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 42-48.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji aktivitas antibakteri senyawa c-4 metoksifenilkaliks [4] resorsinarena termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3(3), 109-209.
- Wardoyo, E. H., Rahim, A. R., Arnawati, I. A., Haza, S. S., Hulfifa, L. N., Alamsyah, A. D. C. F., ... & Hasbi, N. (2024). Aktivitas antibakteri propolis madu putih sumbawa terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 12(1).
- Zulkhairi Amin, F. A., Sabri, S., Mohammad, S. M., Ismail, M., Chan, K. W., Ismail, N & Zawawi, N. (2018). Therapeutic properties of stingless bee honey in comparison with european bee honey. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2018(1), 6179596.