

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

**Karya Tulis Ilmiah  
untuk memenuhi sebagian persyaratan  
untuk mencapai gelar sarjana kedokteran**



**Oleh :  
Siti Saudia Ningrum  
01.206.5300**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG  
2010**

**PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

**Siti Saudia Ningrum**

**01.206.5300**

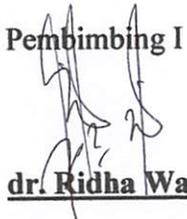
telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 27 Agustus 2010

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

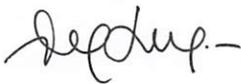
**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I



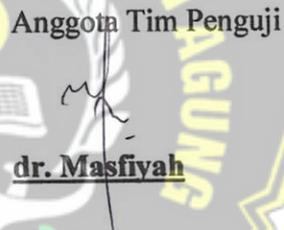
**dr. Ridha Wahyutomo**

Pembimbing II



**dr. Ophi Indria Desanti, MPH.**

Anggota Tim Penguji



**dr. Masfiah**



**dr. Kristanto Muliana**

Semarang, September 2010

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



**Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And**

## PRAKATA

*Assalamu 'alaikum Wr.Wb.*

Alhamdulillah robbil 'alamin, segala puji dan syukur bagi Allah SWT atas berkat rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN MADU TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella typhi* SECARA IN VITRO”**.

Adapun tujuan penyusunan karya tulis ilmiah ini adalah untuk memenuhi sebagian persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Selesainya karya tulis ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang secara langsung dan tidak langsung telah mendorong dan membantu penulis sampai tersusunnya karya tulis ini. Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun., M.Kes.,Sp.And, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberi ijin kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.
2. dr. Ridha Wahyutomo dan dr. Ophi Indria Desanti, MPH selaku Dosen Pembimbing I dan II yang telah meluangkan waktu untuk memberi ilmu dan bimbingan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

3. dr. Masfiah dan dr. Kristanto Mulyana selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberikan masukan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. dr. H. Hadi Sarosa, M. Kes., selaku Koordinator Kegiatan Ilmiah dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Kedua orang tua penulis H. Anayah dan alm. Hj. Supiyah yang telah memberikan motivasi dan dukungan baik moral maupun materi, serta doa yang tak kunjung henti.
6. Kakak-kakakku Mbak Mumun, A' Machfud, A' Syaifu, Mas Dedek, Teh Yanti, Mbak Diyan, Adik tercinta Shola, Kakek H. Abdul Ghofur, Tante dan Keluarga besarku yang tak lupa memberi semangat dan doa.
7. Yuan Syahputra yang telah setia menemani, memberikan bantuan tenaga dan doa serta semangat dalam penelitian ini.
8. Pak Haning dan Mbak Itha, selaku staf Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang, yang telah banyak membimbing dan membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
9. Teman-teman baikku Pipit, Bella, Amanah, Yani, Tiwi, Feba, ochin, Tita, Liha, Nina yang senantiasa memberikan motivasi, arahan, dan bantuan tenaga dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang ikut mendukung dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan karya tulis ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, karena keterbatasan penulis dalam pengetahuan dan kemampuan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis dengan senang hati akan menerima kritik dan saran yang bersifat membangun.

Akhirnya, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi mahasiswa kedokteran pada khususnya.

*Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.*

Semarang, Agustus 2010

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSATAKA.....	7
2.1. Salmonella typhi.....	7
2.1.1. Definisi.....	7
2.1.2. Klasifikasi.....	7

2.1.3. Morfologi .....	8
2.1.4. Daya Tahan Kuman .....	8
2.1.5. Patogenesis .....	8
2.1.6. Faktor Lingkungan Yang Mempengaruhi Pertumbuhan	9
<i>Salmonella typhi</i>	
2.1.6.1. Nutrien .....	9
2.1.6.2. Sumber Karbon .....	9
2.1.6.3. Sumber Nitrogen .....	9
2.1.6.4. Sumber Belerang .....	10
2.1.6.5. Sumber Phospor .....	10
2.1.6.6. Sumber Mineral .....	10
2.1.6.7. Konsentrasi Ion Hidrogen .....	11
2.1.6.8. Temperatur .....	11
2.1.6.9. Aerasi .....	12
2.1.6.10. Kekuatan Ionik dan Tekanan Osmotik .....	12
2.2. Demam Tifoid.....	13
2.2.1. Definisi.....	13
2.1.1. Epidemiologi dan Angka Kesakitan.....	13
2.1.2. Etiologi.....	14
2.1.4. Patogenesis dan Manifestasi klinis.....	14

2.3. Madu .....	16
2.3.1. Definisi .....	16
2.3.2. Madu Murni .....	17
2.3.3. Komposisi Madu .....	17
2.3.3.1. Gula .....	17
2.3.3.2. Air .....	18
2.3.3.3. Kalori .....	18
2.3.3.4. Enzim .....	18
2.3.3.5. Hormon .....	19
2.3.3.6. Asam amino .....	19
2.3.3.7. Vitamin dan Mineral .....	19
2.3.4. Penggolongan Madu .....	20
2.3.4.1. Berdasarkan asal nektar .....	20
2.3.4.2. Berdasarkan proses pengambilannya .....	21
2.3.4.3. Berdasarkan jenisnya .....	21
2.4.5. Faktor-faktor yang menyebabkan madu bersifat antibakteri .....	22
2.4.5.1. Efek Osmotik .....	22
2.4.5.2. Kadar pH rendah, bersifat asam .....	23
2.4.5.3. Aktivitas hidrogen peroksida .....	23
2.4.5.4. Faktor fitokimia .....	23

2.5. Mekanisme madu sebagai antibakteri .....	25
2.6. Metode Dilusi Cair .....	25
2.6.1. Prinsip Kerja .....	25
2.6.2. Kelebihan dan Kekurangan .....	26
2.5. Kerangka Teori.....	27
2.6. Kerangka Konsep.....	28
2.7. Hipotesis.....	28
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>29</b>
3.1. Jenis Penelitian.....	29
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	29
3.2.1. Variabel Penelitian.....	29
3.2.1.1. Variabel Bebas.....	29
3.2.1.2. Variabel Terikat .....	29
3.2.2. Definisi Operasional.....	30
3.2.2.1. Madu .....	30
3.2.2.2. Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> .....	30
3.3. Populasi dan Sampel .....	30
3.4. Instrumen Penelitian .....	31
3.5. Bahan Penelitian.....	31
3.6. Cara Penelitian.....	32

3.6.1. Test antibakteri metode dilusi .....	32
3.6.2. Persiapan .....	33
3.6.2.1. Sterilisasi alat .....	33
3.6.2.2. Pembuatan kepekatan bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	33
3.6.2.3. Pengenceran madu .....	33
3.6.3. Pelaksanaan .....	35
3.7. Skema langka penelitian .....	38
3.8. Pengolahan limbah penelitian .....	39
3.9. Tempat dan Waktu penelitian .....	40
3.10. Analisis Hasil .....	40
Bab IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1. Hasil Penelitian.....	41
4.2. Pembahasan.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1. Kesimpulan.....	47
5.2. Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN	

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Kekeruhan dalam Berbagai Konsentrai .....	34
Tabel 4.2. Daya Bunuh Madu terhadap Salmonella typhi .....	37



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Penelitian

Lampiran 2. Surat Keterangan Penelitian



## INTISARI

*Salmonella typhi* adalah agen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan sampai demam tifoid yang berat disertai bakteremia. Demam tifoid masih merupakan problem kesehatan masyarakat pada negara-negara berkembang di dunia, termasuk Indonesia. Obat pilihan utama untuk demam tifoid di Indonesia menggunakan kloramfenikol. Namun berdasarkan penelitian Ivanoff (2002) semakin banyak *Salmonella typhi* yang resisten terhadap obat-obatan yang diberikan secara oral yang dulunya sangat bermanfaat, seperti kloramfenikol, ampicilin dan kotrimoxazol. Salah satu alternatifnya adalah mengembangkan obat tradisional berupa madu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro.

Penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post test only control group design*. Dalam penelitian ini terdapat 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Metode yang digunakan adalah metode dilusi dengan menghitung jumlah koloni *Salmonella typhi* pada media Muller Hinton agar. Sedangkan untuk analisis penelitian disajikan secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada konsentrasi 25% dan 50% mengalami kekeruhan, sedangkan pada kelompok perlakuan konsentrasi 75% dan 100% menunjukkan jernih. Jernih mengindikasikan bahwa bakteri telah terhambat atau terbunuh oleh agen antibiotik. Dari keempat perlakuan tersebut yang ditanam pada media Muller Hinton agar hanya dua perlakuan. Yaitu konsentrasi 75% dan 100% ditanam pada media Muller Hinton agar untuk mengetahui daya bunuh minimal, dan hasilnya tidak ditemukannya kuman pada kedua konsentrasi tersebut.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan Madu dalam konsentrasi 75% mempunyai daya bunuh minimal terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro.

Kata kunci : *Salmonella typhi*, madu, in vitro.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Salmonella typhi* adalah bakteri pathogen pada manusia. *Salmonella typhi* adalah agen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan sampai demam tifoid yang berat disertai bakteremia (Karsinah dkk, 2009). Demam tifoid termasuk salah satu jenis penyakit infeksi bakteri yang ditemukan pada dewasa maupun anak. Kejadian demam tifoid berkaitan erat dengan sanitasi lingkungan berupa makanan dan minuman yang tercemar, sehingga mempersulit penanggulangan dan memicu timbulnya tifoid karier (Widodo, 2006). Obat pilihan utama atau *drug of choice* untuk demam tifoid di Indonesia menggunakan kloramfenikol (Depkes RI, 2007). Penggunaan kloramfenikol sebagai obat pilihan dalam penyembuhan demam tifoid di Indonesia telah lama digunakan sehingga dapat terjadi perubahan terhadap masalah kepekaan *Salmonella typhi* sebagai penyebab demam tifoid terhadap antibiotika tersebut, yang mengarah masalah resistensi *Salmonella typhi* terhadap kloramfenikol (Nurtjahyani, 2008). sehingga mengilhami pencarian produk alternatif pengganti antibiotika.

Demam tifoid oleh karena *Salmonella typhi* yang tidak ditanganin dengan adekuat maka akan menimbulkan beberapa komplikasi diantaranya adalah pendarahan saluran cerna, ileus paralitikus, pancreatitis, perforasi usus bahkan sampai kematian. Demam tifoid masih merupakan penyakit infeksi tropical sistemik, bersifat endemis, dan masih merupakan problem kesehatan masyarakat pada negara-negara berkembang di dunia, termasuk Indonesia. (Muliawan dkk, 1999). Di Indonesia insiden demam tifoid masih tinggi yaitu rata-rata 900.000 kasus per tahun dengan angka kematian lebih dari 20.000 dan 91% kasus terjadi pada umur 3-19 tahun (Riyanti dkk, 2008). Sedangkan menurut laporan data yang dilakukan oleh Sub Direktorat Surveilans Departemen Kesehatan RI pada tahun 2002, insidensi penyakit demam tifoid menduduki urutan kedua dari 10 pola penyakit terbanyak penderita rawat inap pada seluruh RSU di Indonesia, yaitu sebanyak 182,519 penderita (Shintawati, 2006). Berdasarkan penelitian Ivanoff (2002) sejak tahun 1990 semakin banyak *Salmonella typhi* yang resisten terhadap obat-obatan yang diberikan secara oral yang dulunya sangat bermanfaat, seperti kloramfenikol, ampisilin dan kotrimoxasol (Nurtjahyani, 2007). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lestari dan Severin (2009) tingkat resistensi terhadap antibiotik kloramfenikol di Indonesia sebesar 15 %, ampicillin sebesar 19%, tetracycline sebesar 11%. Fenomena resistensi bakteri ini mendorong para peneliti untuk mendapatkan obat baru yang efektif dan relatif

aman. Salah satu alternatifnya adalah mengembangkan obat tradisional (Pertiwi, 2004).

Madu merupakan salah satu bahan alamiah yang dapat digunakan sebagai antibiotik. Madu memiliki senyawa radikal hydrogen peroksida. Setiap obat memiliki risiko menimbulkan efek samping. Antibiotik merupakan kelompok obat yang sering memberikan efek samping seperti reaksi alergi baik ringan maupun berat, mual, muntah, dan diare (Leman, 2004). Sedangkan madu memiliki efek samping yang relatif rendah (Suranto, 2007). Madu mempunyai efek antibiotik yang pertama kali dikenal tahun 1892 oleh Van Ketel. Efek antibiotik ini diduga karena kandungan gula madu yang tinggi yang disebut efek osmotik. Pemanfaatan madu sebagai obat alternatif dari antibiotik sudah banyak digunakan di beberapa Negara seperti Inggris, Prancis, Jepang, dan Amerika Serikat, menggunakan madu sebanyak 1000-1600 gr/kapita /tahun. Sementara itu di Indonesia mencapai 15 gr per kapita per tahun (Rostita, 2007). Namun, penelitian lebih lanjut menunjukkan adanya zat inhibine yang pada akhirnya diidentifikasi sebagai hidrogen peroksida yang berfungsi sebagai antibiotik. Dr. WG Sackett, ahli bakteriologi dari Colorado Agricultural Academy melakukan penelitian secara in vitro, hasil penelitian menunjukkan bahwa madu dapat mematikan kuman tifus dalam 48 jam (Suranto, 2007).

Pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa madu mempunyai pengaruh terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dengan konsentrasi 100% mampu memperlihatkan khasiatnya sebagai anti jamur (Yesika, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Zabrina (2009) tentang uji potensi antibakteri madu dengan konsentrasi 50% terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro mampu memperlihatkan sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Mulyowati (2005) tentang uji antibakteri madu terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* untuk mengetahui zona hambat yang menunjukkan hasil zona hambat pada madu murni dengan Rerata diameter zona hambat sebesar 21,98 mm dengan konsentrasi madu murni 25%, 50%, 75%, 100% (Mulyowati, 2005) menunjukkan bahwa madu mampu menghambat dan membunuh bakteri *Salmonella typhi*. Uji yang digunakan pada penelitian tersebut adalah uji sensitivitas cakram atau lebih dikenal dengan metode Kirby-Bauer. Cara ini banyak digunakan karena sediaan lebih praktis dan cara pengamatannya lebih mudah (Struthers dan Westran, 2004). Namun manfaatnya sangat kecil bila diaplikasikan secara klinis karena uji sensitivitas cakram hanya memberikan petunjuk kualitatif mengenai tingkat sensitivitas atau resistensi suatu kuman yang diisolasikan (Hart dan Shears, 1996). Cara lain yang bisa digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri suatu zat adalah metode dilusi. Metode ini jarang digunakan karena sediaan tidak praktis dan membutuhkan ketelitian tinggi saat pengamatan sehingga tidak cocok jika digunakan dalam penelitian yang bersifat rutin (Struthers dan Westran, 2004). Namun metode

ini mempunyai kelebihan dibandingkan metode difusi cakram yang biasa digunakan. Metode dilusi lebih bersifat kuantitatif sehingga memungkinkan untuk menentukan konsentrasi penghambatan minimum dan konsentrasi daya bunuh minimum. Penetapan konsentrasi ini penting terutama pada penyakit infeksi serius dan pada penggunaan antimikroba dengan keracunan yang berkaitan dengan dosisnya (Hart dan Shears, 1996). Berdasarkan uraian diatas maka penulis tertarik melakukan penelitian lebih lanjut pengaruh pemberian madu terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro.

### 1.1. Rumusan Masalah

Dari uraian di atas, maka dapat dirumuskan suatu masalah “Bagaimana pengaruh pemberian madu terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro”.

### 1.2. Tujuan Penelitian

#### 1.2.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian madu terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro.

#### 1.2.2. Tujuan Khusus

Mengetahui kadar bunuh minimal madu terhadap *Salmonella typhi* dalam berbagai konsentrasi secara in vitro.

### 1.3. Manfaat Penelitian

#### 1.3.1. Manfaat Praktisi

Bermanfaat untuk menabahnya khasanah pengetahuan mengenai pemberian madu terhadap kematian *Salmonella typhi* secara in vitro

#### 1.3.2. Manfaat Pengembangan Ilmu

Menjadi tambahan wawasan bagi para pembaca dan masukan bagi penelitian-penelitian selanjutnya.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Salmonella typhi*

##### 2.1.1. Definisi

*Salmonella typhi* adalah organisme yang berasal dari genus *Salmonella*, agen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan sampai dengan demam tifoid yang berat disertai bakterinemia (Karsinah dkk, 2009).

##### 2.1.2. Klasifikasi

Klasifikasi dari *Salmonella typhi* menurut Bernner dkk (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryota
Divisio	: Bacteria
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Subordo	: Eubacterianae
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Species	: <i>Salmonella typhi</i>

### 2.1.3. Morfologi

*Salmonella typhi* merupakan kuman berbentuk batang, tidak berspora, pewarnaan gram bersifat negatif Gram, ukuran 1–3,5  $\mu\text{m}$  x 0,5–0,8  $\mu\text{m}$ , besar koloni rata-rata 2-4 mm, mempunyai flagel peritrikh (Karsinah dkk, 2009).

### 2.1.4. Daya Tahan Kuman

*Salmonella typhi* mati pada suhu 56°C juga pada keadaan kering, jika dalam air dapat tahan sampai 4 minggu. Bakteri *Salmonella typhi* dapat hidup subur pada medium yang mengandung garam empedu serta tahan terhadap zat warna hijau brillian dan senyawa Natrium tetrasonat, dan Natrium deoksikholat. Senyawa – senyawa ini menghambat pertumbuhan kuman koliform sehingga senyawa – senyawa tersebut dapat digunakan di dalam media untuk isolasi kuman *Salmonella* dari tinja (Karsinah dkk, 2009).

### 2.1.5. Patogenesis

Bakteri *Salmonella typhi* bersama makanan atau minuman masuk ke dalam tubuh melalui mulut. Pada saat melewati lambung dengan suasana asam ( $\text{pH} < 2$ ) dan keadaan lain yang dapat menyebabkan bakteri mati, tetapi bakteri yang masih dapat bertahan hidup akan mencapai usus halus (Soedarmo, 2008). Kemudian masuk ke getah bening lalu ke aliran darah yang akhirnya dibawa ke beberapa organ. Bakteri akan maningkat di dalam jaringan getah bening intestinal dan dikeluarkan dalam tinja (Jawetz dkk, 2005). Organ yang paling disukai oleh *Salmonella typhi* adalah hati, limpa,

sumbu tulang, kandung empedu, dan *Peyer's patch* dari ileum terminal. Invasi pada kandung empedu dapat terjadi baik melalui aliran darah maupun penyebaran retrograd dari empedu (Soedarmo, 2008).

#### **2.1.6. Faktor Lingkungan Yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Salmonella typhi***

*Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan Salmonella typhi* antara lain:

##### **2.1.6.1. Nutrien**

Nutrien dalam media pembenihan harus mengandung seluruh elemen penting untuk sintesis biologik organisme baru.

##### **2.1.6.2. Sumber Karbon**

Karbondioksida dibutuhkan pada sejumlah reaksi biosintesis. Banyak organisme respiratif menghasilkan lebih dari cukup karbondioksida untuk memenuhi kebutuhannya, tetapi yang lain membutuhkan sumber karbondioksida pada medium pertumbuhan.

##### **2.1.6.3. Sumber Nitrogen:**

Hasil akhir dari seluruh jalur asimilasi nitrogen adalah bentuk paling tereduksi yaitu ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ )

#### 2.1.6.4. Sumber Belerang

Kebanyakan mikroorganisme dapat menggunakan sulfat sebagai sumber belerang, mereduksi sulfat menjadi hidrogen sulfida ( $H_2S$ ). Beberapa mikroorganisme dapat mengasimilasi  $H_2S$  secara langsung dari medium pertumbuhan tetapi senyawa ini dapat menjadi racun bagi banyak organisme.

#### 2.1.6.5. Sumber Fosfor

Fosfat ( $PO_4^{3-}$ ) dibutuhkan sebagai komponen ATP, asam nukleat dan sejumlah koenzim seperti NAD, NADP dan flavin.

#### 2.1.6.6. Sumber mineral

Sejumlah besar mineral dibutuhkan untuk enzim. Pada umumnya harus ada: hidrogen donor dan penerima sekitar 2 g/L; sumber karbon : sekitar 1 g/L; sumber nitrogen : sekitar 1 g/L; mineral: belerang dan fosfor masing-masing sekitar 50 mg/L; faktor pertumbuhan: asam amino, purin, pirimidin, masing-masing sekitar 50mg/L; vitamin masing-masing 0,1-1 mg/L. Kebanyakan mikroba yang hidup bebas akan tumbuh dengan baik pada ekstrak ragi; bentuk parasitik membutuhkan substansi khusus yang ditemukan hanya pada darah atau pada ekstrak jaringan hewan. Organisme, senyawa tunggal (seperti

asam amino) dapat bertindak sebagai sumber energi, karbon dan nitrogen (Jawetz, 2005).

#### 2.1.7. Konsentrasi Ion Hidrogen (pH)

Kebanyakan organisme (*neutrophiles*) tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0, meskipun beberapa bentuk (*acidophiles*) memiliki pH optimal serendah 3,0 dan yang lainnya (*alkalophiles*) memiliki pH optimal setinggi 10,5.

#### 2.1.8. Temperatur

Spesies mikroba yang berbeda sangat beragam kisaran temperatur optimalnya untuk tumbuh bentuk psychophilik tumbuh baik pada temperatur rendah (15-20<sup>0</sup>C), bentuk mesophilik tumbuh terbaik pada 30-37<sup>0</sup>C dan kebanyakan bentuk termophilik tumbuh terbaik pada 50-60<sup>0</sup>C, kebanyakan organisme adalah mesophilik 30<sup>0</sup>C adalah temperatur optimal untuk berbagai bentuk yang hidup bebas dan temperatur badan inang adalah optimal untuk berbagai bentuk yang hidup bebas dan temperatur badan inang adalah optimal untuk simbion hewan berdarah panas.

Selain berpengaruh pada laju pertumbuhan, temperatur yang ekstrim dapat membunuh mikroorganisme. Panas yang ekstrim digunakan untuk sterilisasi, dingin yang ekstrim dapat membunuh sel mikroba, meskipun hal ini tidak aman digunakan untuk sterilisasi.

Bakteri juga menunjukkan fenomena yang disebut **cold shock**, pertumbuhan sel-sel dengan pendinginan cepat.

#### 2.1.9. Aerasi

Berbagai organisme obligat aerob, secara khusus membutuhkan oksigen sebagai penerima hidrogen, beberapa adalah fakultatif, mampu hidup secara aerob atau secara anaerob, membutuhkan substansi selain oksigen sebagai penerima hidrogen dan menjadi peka terhadap penghambat oksigen. Hasil alami metabolisme aerob adalah senyawa reaktif hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan superoksida ( $O_2$ ). Dengan adanya unsur besi, dua spesies ini menghasilkan radikal hidroksil (OH), yang dapat merusak setiap makromolekul biologi.

#### 2.1.10. Kekuatan Ionik dan Tekanan Osmotik

Pada tingkatan yang lebih kecil, faktor-faktor seperti tekanan osmotik dan konsentrasi garam harus dapat dikontrol. Organisme yang membutuhkan konsentrasi garam tinggi disebut halofilik. Organisme yang membutuhkan tekanan osmotik yang tinggi disebut osmofilik. Bakteri mentoleransi kisaran tekanan osmotik dan kekuatan ionik eksternal yang besar karena kemampuan mereka untuk mengatur osmolalitas dan konsentrasi ion internal (Jawetz, 2005).

## 2.2. Demam Tifoid

### 2.2.1. Definisi

Demam tifoid adalah suatu penyakit sistemik akut yang disebabkan oleh infeksi kuman *Salmonella typhi* (Angelia, 2005).

### 2.2.2. Epidemiologi dan Angka Kesakitan

Terdapat dua sumber penularan *Salmonella typhi* yaitu pada pasien dengan demam tifoid dan karier. Di daerah endemik, penularan kuman penyebab demam tifoid terjadi melalui air yang tercemar. Sedangkan makanan yang tercemar oleh karier merupakan sumber penularan yang paling sering di daerah non endemik. Distribusi demam tifoid tidak tergantung pada iklim dan banyak dijumpai di Negara-negara berkembang di daerah tropis. Hal ini disebabkan kurangnya penyediaan air bersih, sanitasi lingkungan, dan kebersihan individu (Angelia, 2005).

Di Indonesia, menurut laporan data surveilans yang dilakukan oleh Sub Direktorat Surveilans Departemen Kesehatan, insidensi penyakit demam tifoid menunjukkan angka yang terus meningkat, yaitu jumlah kasus pada tahun 1990, 1991, 1992, 1993, dan 1994, berturut-turut adalah 9.2, 13.4, 15.8, 17.4 per 10.000 penduduk. Sementara data penyakit demam tifoid dari Rumah Sakit dan Pusat Kesehatan juga meningkat dari 92 kasus pada tahun 1994 menjadi 125 kasus pada tahun 1996 per 100.000 penduduk (Muliawan, 1999). Menurut

laporan data surveilans departemen kesehatan RI pada tahun 2002, insidensi penyakit demam tifoid menduduki urutan kedua dari pola 10 penyakit terbanyak penderita rawat inap pada seluruh RSU di Indonesia yaitu sebanyak 182.519 penderita (Shintawati, 2006).

### 2.2.3. Etiologi

Demam tifoid disebabkan oleh infeksi kuman *Salmonella typhi* (Angelia, 2005).

### 2.2.4. Patogenesis dan Manifestasi Klinis

Masuknya kuman *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* ke dalam tubuh manusia terjadi melalui makanan yang terkontaminasi kuman. Sebagian kuman dimusnahkan dalam lambung, sebagian lolos masuk ke dalam usus dan selanjutnya berkembang biak. Bila respon imunitas humoral mukosa (IgA) usus kurang baik maka kuman akan menembus sel-sel epitel (terutama sel-M) dan selanjutnya ke lamina propia. Di lamina propia kuman berkembang biak dan difagosit oleh sel-sel fagosit terutama oleh makrofag. Kuman dapat hidup dan berkembang biak di dalam sirkulasi darah (mengakibatkan bakteremia pertama yang asimtomatik) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama hati dan limpa. Di organ-organ ini kuman meninggalkan sel-sel fagosit dan kemudian berkembang biak di luar sel atau ruang sinusoid dan

selanjutnya masuk ke dalam sirkulasi darah lagi mengakibatkan bakteremia yang kedua kalinya dengan disertai tanda-tanda dan gejala penyakit infeksi sistemik. Didalam hati, kuman masuk ke dalam kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan secara “intermitten” ke dalam lumen usus. Sebagian kuman dikeluarkan melalui feses dan sebagian masuk lagi ke dalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses yang sama terulang kembali, berhubung makrofag telah teraktivasi dan hiperaktif maka saat fagositosis kuman *Salmonella* terjadi pelepasan beberapa inflamasi sistemik seperti demam, malaise, sakit kepala, sakit perut, instabilitas vaskuler, gangguan mental dan koagulasi.

Didalam plaque peyeri makrofag hiperaktif menimbulkan reaksi hyperplasia jaringan (*S.typhi* intra makrofag menginduksi reaksi hipersensitivitas tipe lambat, hyperplasia jaringan dan nekrosis organ). Perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat erosi pembuluh darah sekitar plaque peyeri yang sedang mengalami nekrosis dan hyperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuclear di dinding usus. Proses patologis jaringan limfoid ini dapat berkembang hingga ke lapisan otot, serosa usus, dan dapat mengakibatkan perforasi. Endotoksin dapat menempel di reseptor sel endotel kapiler dengan akibat timbulnya komplikasi seperti gangguan neuropsikatrik, kardiovaskular, pernapasan, dan gangguan organ lainnya (Widodo,2006).

Peran Endotoksin dalam patogenesis demam tifoid tidak jelas, hal tersebut terbukti dengan tidak terdeteksinya endotoksin dalam sirkulasi penderita

melalui pemeriksaan. Diduga endotoksin dari *Salmonella typhosa* menstimulasi makrofag di dalam hati, limpa, folikel limfoma usus halus dan kelenjar limfe mesenterika untuk memproduksi sitokin dan zat-zat lain. Produk dari makrofag inilah yang dapat menimbulkan nekrosis sel, system vascular yang tidak stabil, demam, depresi sumsum tulang, kelainan pada darah dan juga menstimulasi system imunologis.

Respon imunologis, pada demam tifoid terjadi respon humoral maupun seluler, baik di tingkat local (gastrointestinal) maupun sistemik. Akan tetapi, bagaimana mekanisme imunologis ini dalam menimbulkan kekebalan maupun eliminasi terhadap *Salmonella typhosa* tidak diketahui dengan pasti. Diperkirakan imunitas seluler lebih berperan (Rampengan,2007).

## 2.3. Madu

### 2.3.1. Definisi

Madu adalah bahan alamiah yang manis rasanya, dihasilkan oleh lebah madu (*Apis malifers*) dan berasal dari sari bunga atau dari cairan yang berasal dari cairan yang berasal dari tanaman-tanaman hidup yang dikumpulkan, diubah, dan diikat dengan senyawa-senyawa tertentu oleh lebah, kemudian disimpan dalam sarangnya. Komponen utama adalah glukosa dan fruktosa. Senyawa dan bahan lain yang terkandung dalam madu adalah protein, asam amino, enzim, asam-asam organik, mineral, tepung sari, sukrosa, maltose, malezitos, dan oligosakarida lain termasuk dekstrin. Dalam madu juga terdapat sedikit kapang,

algae, ragi, dan paktikel-paktikel yang berasal dari proses pengambilannya. Warna madu bervariasi; dari hamper tidak berwarna sampai coklat gelap. Konsistensi madu bias encer, kental, atau berkristal. Cita rasa dan aromanya berbeda-beda, bergantung pada sumber asalnya (Rostita, 2007).

### 2.3.2. Madu murni

Madu murni menurut farmakope Indonesia adalah madu yang diperoleh dari sarang lebah madu *Apis mellifera* dan spesies lainnya yang telah dimurnikan dengan pemanasan sampai 70°C. Setelah dingin, kotoran yang mengapung disaring. Selanjutnya, madu dapat ditambah dengan air (Sarwono, 2001).

### 2.3.3. Komposisi madu

#### 2.3.3.1. Gula

Komposisi terbesar madu berupa gula fruktosa dan glukosa (85-95,5% dari total gula). Tingginya kandungan gula sederhana dan prosentase fruktosa menciptakan karakteristik nutrisi yang khas untuk madu. Jenis gula lainnya adlah disakarida (sukrosa, maltose, dan insomia), trisakarida dan oligosakarida terkandung dalam jumlah sedikit. Madu bunga juga mengandung dekstrin, sejenis zat tepung yang mudah diserap tubuh. Dekstrin meningkatkan densitas madu dan melambatkan kristalisasi. Komposisi berbagai gula yang dikandung madu tersebut ditentukan oleh sumber nectarnya.

### 2.3.3.2. Air

Komposisi terbesar kedua setelah gula adalah air. Keberadaan air dalam madu merupakan hal penting terutama pada proses penyimpanan. Hanya madu yang mengandung kadar air kurang dari 18% yang dapat disimpan tanpa khawatir terjadi fermentasi. Kelembapan udara, jenis nectar, proses produksi, dan penyimpanan akan mempengaruhi kandungan air.

### 2.3.3.3. Kalori

Madu merupakan salah satu nutrisi alami sumber energy. Satu kilogram madu mengandung 3.280 kalori atau setara dengan 50 butir ayam, 5,7 liter susu, 25 buah pisang, 40 buah jeruk, 4 kg kentang dan 1,68 kg daging.

### 2.3.3.4. Enzim

Enzim adalah sejenis protein yang diperlukan untuk berlangsungnya berbagai proses biokimiawi dalam tubuh. Madu asli mengandung banyak enzim yang berasal dari tumbuhan dan kelenjar ludah lebah. Pada madu embun, enzim juga diperoleh dari serangga penghisap. Enzim yang terkandung dalam madu adalah invertase, diastase, katalase, oksidase, peroksidase, dan protease. Enzim invertase berasal dari kelenjar ludah lebah saat memproses nectar, tetapi sebagian sudah tersedia dalam nectar. Enzim ini berguna untuk memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa.

Enzim diastase berfungsi mengubah zat tepung menjadi dekstrin dan maltose. Kemampuan enzim mengubah zat tepung ini dipengaruhi suhu. Enzim akan rusak bila madu dipanaskan suhu 60-80°C. Enzim katalase mengubah hydrogen peroksidase yang menimbulkan efek antibakteri.

#### 2.3.3.5. Hormon

Hormon adalah zat kimia yang berfungsi mengatur aktivitas sel atau organ tubuh. Madu mengandung hormon gonadotropin yang berfungsi menstimulasi kelenjar seksual. Pada lebah, hormon ini merangsang alat reproduksi lebah ratu dan membantu proses pematangan telur.

#### 2.3.3.6. Asam amino

Madu mengandung asam amino esensial yang penting untuk tubuh, seperti proline, tiroksin, fenilalanin, glutamine, dan asam aspartat. Namun, kandungannya sangat bervariasi dari 0,6 hingga 500 mg dalam 100 gram madu. Sumber asam amino madu berasal dari kelenjar lebah dan nectar. Pada penyimpanan yang lama, konsentrasi asam amino pada madu bias menurun.

#### 2.3.3.7. Vitamin dan mineral

Madu kaya akan vitamin A, betakaroten, vitamin B kompleks (lengkap), vitamin C,D,E, dan K. Penelitian di Universitas Florida Departemen Ilmu Makanan dan Nutrisi

Manusia menyimpulkan bahwa madu mengandung banyak nutrisi penting seperti vitamin B6, riboflavin, thiamin, dan asam pantotenat. Madu mengandung mineral cukup lengkap namun bervariasi antara 0,01%-0,64%. D. Jarvis meneliti kandungan mineral madu dan memastikan dari 100% sampel terdapat zat besi, kalium, kalsium, magnesium, tembaga, mangan, natrium, dan fosfor. Zat lainnya adalah barium, seng, sulfur, klorin, yadium, zirconium, gallium, vanadium, cobalt, dan molybdenum. Sebagian kecil madu ada yang mengandung bismuth, germanium, lithium, dan emas. Elemen mineral dalam madu merupakan yang paling lengkap dan tinggi di antara produk organik lainnya. Biasanya madu yang berwarna gelap lebih kaya akan mineral. Madu multiflora juga kaya akan mineral. Sesuai dengan sumber nektarnya, madu dapat mengandung zat obat. Selain itu, sejumlah kecil zat lemak, seperti asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipins, dan sterol dapat dideteksi dalam madu.

#### **2.3.4. Penggolongan madu**

##### **2.3.4.1. Berdasarkan asal nektar**

Madu dapat dibedakan atas tiga golongan, yaitu madu flora, madu ektraflora, madu embun. Madu flora adalah madu yang dihasilkan dari nektar bunga. Madu yang berasal dari satu jenis disebut madu flora yang berasal dari aneka ragam bunga disebut

madu poliflora. Madu poliflora mengandung enzim asam amino bebas jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan madu monoflora. Madu ektraflora adalah madu yang dihasilkan dari nectar diluar bunga, seperti daun, cabang, atau batang tanaman (Sarwono, 2001).

Madu embun tidak diambil dari nectar bunga, tetapi berasal dari cairan mirip madu berupa sekresi serangga lain atau mirip getah tanaman yang diisap tanaman lain. Kendati cukup berpotensi pasar embun madu sulit meningkat karena rasanya kurang disukai. Lagi pula, dibandingkan dengan madu biasa, embun madu sulit dicerna sehingga bias menyebabkan disentri (Rositita, 2007).

#### 2.3.4.2. Berdasarkan proses pengambilannya

Madu dapat dibedakan atas madu ekstraksi dan madu paksa. Madu ekstraksi diperoleh dari sarang lebah yang tidak dirusak dengan cara memusingkan atau memutarnya dengan alat ekstraktor. Madu paksa diperoleh dengan merusak sarang lebah lewat pengepresan, penekanan atau dengan cara lainnya (Suriawara, 2000).

#### 2.3.4.3. Berdasarkan jenisnya

##### 2.3.4.3.1. Madu campuran

Campuran dari dua atau lebih jenis madu yang berbeda dalam hal warna, rasa dan tempat dan asal bunga.

Sebagian besar madu dipasarkan berjenis madu campuran.

#### 2.3.4.3.2. Madu poliflora

Dibuat dari berbagai jenis bunga.

#### 2.3.4.3.3. Madu monoflora

Memiliki rasa dan warna berbeda bergantung asal nectar. Lebah panjaga membuat sarang khusus di sekitar tempat tumbuh satu jenis bunga pilihan lebah. Pada praktiknya, karena sulit mengambil nectar dari satu jenis bunga saja, lebah juga menambahkan nectar dari jenis bunga lain.

#### 2.3.4.3.4. Embun madu

Tidak diambil nectar bunga, tetapi berasal dari cairan mirip madu berupa sekresi serangga lain atau dari getah tanaman yang diisap serangga lain. Eropa, embun madu cukup populer terutama madu yang berasal dari hutan pinus yang mengandung getah pinus dan digunakan sebagai obat.

### 2.4.5 Faktor-faktor yang menyebabkan madu bersifat antibakteri

#### 2.4.5.1 Efek osmotik

Madu memiliki aktivitas sebagai antibiotik karena madu memiliki kadar air yang relatif rendah yakni kurang dari 20% dan kadar gula

yang tinggi, terdiri dari glukosa 34%, fruktosa 40,54% dan sukrosa 1,9% mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri, sehingga bakteri tersebut tidak mampu beraktivitas, oleh karena sel bakteri yang hidup (protoplasma) akan terlepas dari dinding sel. kondisi tersebut sangat tidak mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme karena menimbulkan efek osmosis yang dapat membunuh mikroorganisme.

2.4.5.2 Berdasarkan efek osmotik ini, seharusnya madu diencerkan hingga kadar gulanya menurun akan mengurangi efek antibakteri. Beberapa jenis madu tetap dapat mematikan bakteri meskipun diencerkan hingga 7-14 kali.

2.4.5.3 Kadar pH rendah, bersifat asam.

pH antara 3,2 – 4,5 cukup rendah dan bersifat asam untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang berkembang biak rata-rata pada pH 7,2 – 7,4.

2.4.5.4 Aktivitas hidrogen peroksida.

Selain efek osmotik, madu mengandung zat lain yang dapat membunuh bakteri yaitu hidrogen peroksida. Kelenjar hipofaring madu mengsekresikan enzim glukosa oksidase yang akan bereaksi dengan glukosa bila ada air dan memproduksi hidrogen peroksida. Dulu, hidrogen peroksida sebagai zat inhibisi. Reaksi kimiawi ini berlangsung sesaat, tetapi dalam jumlah kecil terus terbentuk hingga

madu matang. Bila madu bereaksi kembali dengan air maka produksi hidrogen peroksida akan meningkat lagi. Konsentrasi hidrogen peroksida pada madu sekitar 1 mmol/l, 1000 kali lebih kecil jumlahnya daripada larutan hidrogen peroksida 3% yang biasa dipakai sebagai antiseptik. Meskipun konsentrasinya paling kecil, efektivitasnya tetap baik sebagai pembunuh kuman.

#### 2.4.5.5 Factor fitokimia

Pada beberapa jenis madu juga ditemukan zat antibiotik. Zat tersebut disebut faktor non-peroksida seperti vitamin C, ion logam, enzim katalase. Aktifitas fagositosis dan meningkatkan limfosit. Fagositosis adalah mekanisme “membunuh” kuman oleh sel yang disebut fagosit, sedangkan limfosit adalah sel darah putih yang besar perannya dalam membunuh kuman. Penelitian terbaru memperlihatkan madu dapat meningkatkan pembelahan sel limfosit, artinya turut memperbanyak sel darah putih. Selain itu madu juga meningkatkan produksi sel monosit yang dapat mengeluarkan sitokin, TNF-alfa, interleukin 1, dan interleukin 6 yang mengaktifkan respon daya tahan tubuh terhadap infeksi. Kandungan glukosa dan keasaman madu ikut membantu sel fagosit dalam menghancurkan bakteri.

(Suranto, 2007).

## 2.5. Mekanisme madu sebagai antibakteri

Madu mempunyai enzim glukose oxidase yang mampu mengubah glukosa, H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub> bebas menjadi asam glukonat dan hydrogen peroksida. Sehingga keberadaan enzim dapat meningkatkan jumlah hydrogen peroksida di dalam madu (Molan, 2001). Madu mengandung enzim katalase yang akan mengubah hydrogen peroksida yang menimbulkan antibakteri menjadi air dan oksigen. Hydrogen peroksida mampu membunuh bakteri melalui reaksi degenerasi oksidatif. Reaksi ini akan merusak lipid dan protein membrane sel bakteri sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri tersebut. (Suranto, 2007).

## 2.6. Metode Dilusi Cair

### 2.6.1. Prinsip Kerja

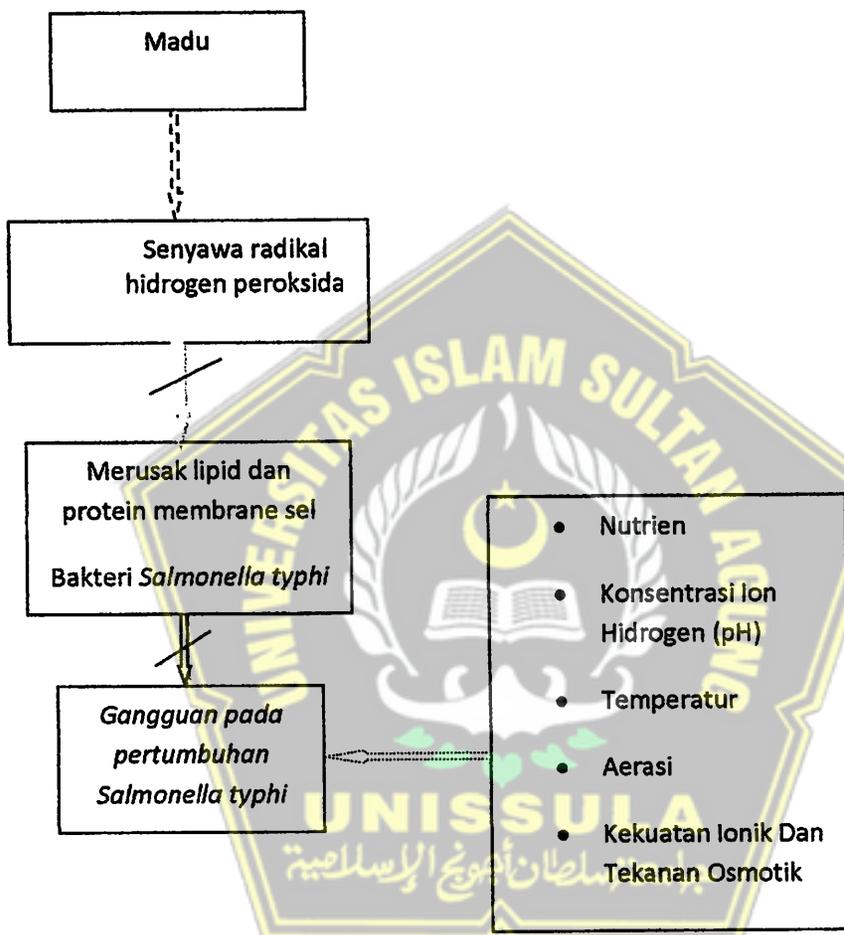
Satu seri tabung diisi media cair dan sejumlah mikroba tertentu yang akan diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat atau zat yang akan diuji yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati kekeruhan pada tabung. Konsentrasi penghambatan minimum atau MIC adalah konsentrasi terendah zat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba). Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba

yang tumbuh. Konsentrasi daya bunuh bakteri minimum adalah konsentrasi terendah zat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba.

#### 2.6.2. Kelebihan dan Kekurangan

Kelemahan metode dilusi cair adalah sediaan yang tidak praktis dan membutuhkan ketelitian tinggi saat pengamatan sehingga tidak cocok jika digunakan dalam penelitian yang bersifat rutin (Struthers dan Westran, 2004). Namun metode ini mempunyai kelebihan dibandingkan metode difusi cakram yaitu lebih bersifat kuantitatif sehingga memungkinkan untuk menentukan konsentrasi penghambatan minimum atau Minimum Inhibitory Concentration dan konsentrasi daya bunuh bakteri minimum atau Minimum Bactericidal Concentration. Penetapan konsentrasi ini penting terutama pada penyakit infeksi serius dan pada penggunaan antimikroba dengan keracunan yang berkaitan dengan dosisnya (Hart dan Shears, 1996).

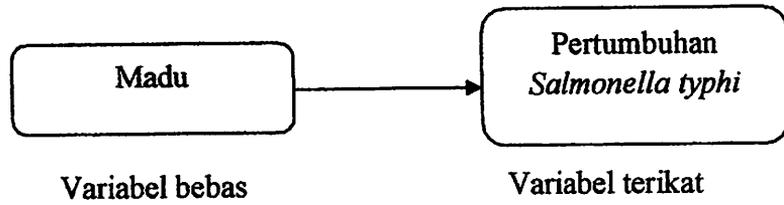
## 2.7. Kerangka Teori



Keterangan :

- ⋮ : Kandungan dalam madu
- : Reaksi kerja
- ⊥ : sehingga mengakibatkan
- ← : faktor luar yang mempengaruhi

## 2.8. Kerangka Konsep



## 2.9. Hipotesis

Adanya pengaruh pemberian madu terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan “*Post test only control group design*”, yaitu suatu rancangan percobaan yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Pratiknya, 2003).

#### **3.2 Variabel dan Definisi Operasional**

3.2.1 Variabel-variabel yang terdapat dalam penelitian ini meliputi :

##### 3.2.1.1 Variabel bebas (*independent variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah madu dengan berbagai konsentrasi.

##### 3.2.1.2 Variabel terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Salmonella typhi*.

### 3.2.2 Definisi operasional

3.2.2.1 Madu ialah cairan kental berasa manis, berwarna kuning terang atau kuning tua keemasan berasal dari nectar yang dihasilkan oleh lebah atau tawon. Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis madu poliflora yang telah diencerkan dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%.

Skala : Ordinal

3.2.2.2 Pertumbuhan *Salmonella typhi* adalah jumlah koloni *Salmonella typhi* yang dihitung berdasarkan koloni yang tumbuh, pada saat hasil pengenceran menunjukkan jernih, kemudian ditanam pada media Mueller Hinton agar dan diinkubasi. Kemudian pertumbuhan *Salmonella typhi* dihitung secara langsung dalam media Mueller Hinton agar tersebut.

Skala : Rasio

### 3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah stok bakteri *Salmonella typhi* yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada bulan Mei 2010.

3.3.2 Sampel pada penelitian ini adalah bakteri *Salmonella typhi* dengan kepekatan yang telah diencerkan menjadi  $3 \times 10^8$ .

### 3.4 . Instrument Penelitian

Instrumen yang dipakai dalam penelitian ini adalah:

- Rak dan tabung reaksi
- Beker glass
- Ose
- Mikropipet
- Autoclave
- Inkubator

### 3.5 . Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang dipakai dalam penelitian ini adalah:

- Madu murni yang telah diencerkan dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%.
- Bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari koleksi bakteri Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan kepekatan kuman sesuai standar Mac Farland 1 yaitu  $3 \times 10^8$  bakteri / ml.
- NaCl 0,9% steril.

- Media Mac Conkey.
- Aquades steril

### 3.6 . Cara Penelitian

#### 3.6.1 Test antibakteri metode dilusi (pengenceran)

Prinsip metode ini adalah sejumlah madu diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, lalu masing-masing konsentrasi diberikan pada suspensi kuman dalam media cair. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Konsentrasi penghambatan minimal atau MIC adalah konsentrasi terendah madu pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri). Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi daya bunuh bakteri minimal adalah konsentrasi terendah madu pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri.

### 3.6.2 Persiapan

#### 3.6.2.1 Sterilisasi Alat

Alat dan bahan penelitian disterilisasi, kecuali madu dan suspensi kuman, agar terhindar dari senyawa atau mikroorganisme lain yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian, dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Alat-alat yang digunakan ditunggu sehingga mencapai suhu kamar dan kering.

#### 3.6.2.2 Pembuatan Kepekatan Bakteri *Salmonella typhi*

Ambil strain murni *Salmonella typhi* dengan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi media Brain Heart Infusion (BHI) 0,9% steril lalu dicampurkan sampai homogen. Lalu bandingkan kekeruhan yang terjadi dengan standar Mac Farland I dengan kepekatan kuman  $3 \times 10^8$ .

#### 3.6.2.3 Pengenceran madu

Madu murni sudah tersedia dalam konsentrasi 100%, Kemudian untuk mendapatkan kadar konsentrasi 75%, 50% dan 25% dilakukan pengenceran.

Pengenceran dengan menggunakan persamaan berikut :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan :

N1= Konsentrasi awal

V1= Volume awal

N2= Konsentrasi akhir

V2= Volume akhir

- 3.6.2.3.1 Untuk memperoleh madu 75% sebanyak 50 ml, madu 100% harus diencerkan dengan menambahkan aquades sebanyak 12,5 ml ke dalam 37,5 ml madu 100%.

Pengenceran menggunakan perhitungan berikut :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 75\% \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = 37,5 \text{ ml}$$

- 3.6.2.3.2 Untuk memperoleh madu 50% sebanyak 50 ml, madu 100% harus diencerkan dengan menambahkan aquades sebanyak 25 ml ke dalam 25 ml madu 100%.

Pengenceran menggunakan perhitungan berikut :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 50\% \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = 25 \text{ ml}$$

- 3.6.2.3.3 Untuk memperoleh madu 25% sebanyak 50 ml, madu 100% harus diencerkan dengan menambahkan aquades sebanyak 37,5 ml ke dalam 12,5 ml madu 100%.

Pengenceran menggunakan perhitungan berikut :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 25\% \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = 12,5 \text{ ml}$$

### 3.6.3 Pelaksanaan

- 3.6.3.1 Siapkan 5 tabung reaksi. Satu tabung untuk masing-masing konsentrasi dan kontrol.

#### 3.6.3.1.1 Kelompok I (Kontrol negatif)

Masukkan 0,1 ml kultur *Salmonella typhi* ditambahkan 5 ml aquades steril ke dalam tabung reaksi.

#### 3.6.3.1.2 Kelompok II (Konsentrasi 25 %)

Masukkan 5 ml madu 25% ditambah dengan 0,1 ml kultur *Salmonella typhi* ke dalam tabung reaksi.

#### 3.6.3.1.3 Kelompok III (Konsentrasi 50%)

Masukkan 5 ml madu 50% ditambah dengan 0,1 ml kultur *Salmonella typhi* ke dalam tabung reaksi.

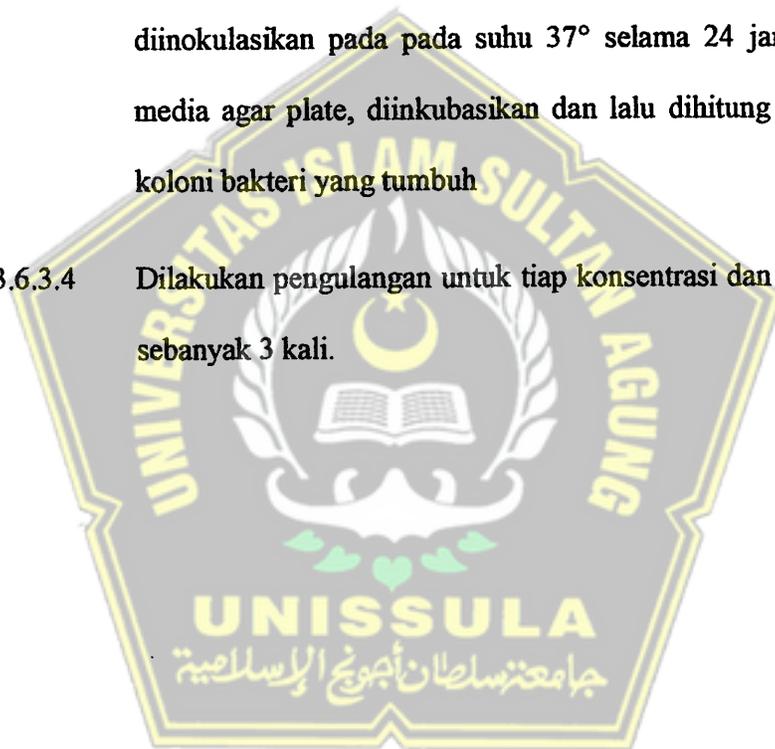
#### 3.6.3.1.4 Kelompok IV (Konsentrasi 75%)

Masukkan 5 ml madu 75% ditambah dengan 0,1 ml kultur *Salmonella typhi* ke dalam tabung reaksi.

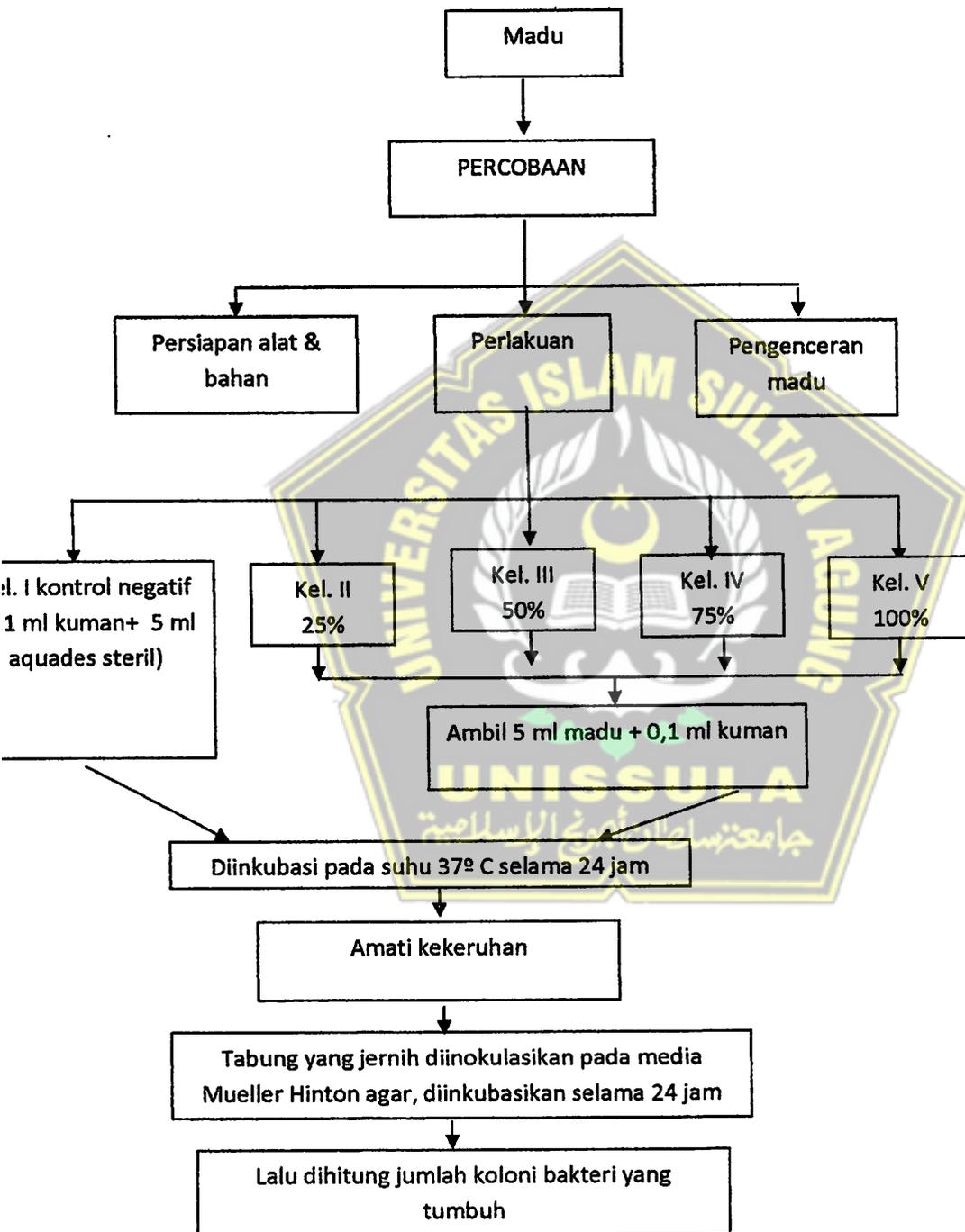
#### 3.6.3.1.5 Kelompok V (Konsentrasi 100%)

Masukan 5 ml madu 100% ditambah dengan 0,1 ml kultur *Salmonella typhi* ke dalam tabung reaksi .

- 3.6.3.2 Inkubasi tabung-tabung reaksi tersebut dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}$  C selama 24 jam beserta dengan kontrol.
- 3.6.3.3 Diamati adanya kekeruhan.
- 3.6.3.4 Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada pada suhu  $37^{\circ}$  selama 24 jam pada media agar plate, diinkubasikan dan lalu dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh
- 3.6.3.4 Dilakukan pengulangan untuk tiap konsentrasi dan kontrol sebanyak 3 kali.



### 3.7 SKEMA LANGKAH PENELITIAN



### 3.7. Pengelolaan Limbah Penelitian

Limbah penelitian ini termasuk dalam limbah infeksius, maka pengelolanya perlu dilakukan langkah – langkah berikut ini:

- 3.7.1. Petugas harus mencuci tangan sebelum dan sesudah mengelola sampah serta memakai sarung tangan (alat perlindungan diri).
- 3.7.2. Cuci semua instrument penelitian dengan sabun, keringkan dan disterilkan dengan *autoclave*.
- 3.7.3. Masukkan semua bahan-bahan penelitian yang sudah tidak diperlukan lagi ke dalam kantong plastik berwarna kuning bersimbol biohazard seperti telah ditetapkan dalam Permenkes RI no. 986/Men.Kes/Per/1992. Kantong plastik diusahakan berbahan kuat dan tidak mudah sobek.
- 3.7.4. Isi kantong plastik tidak boleh terlalu penuh, diisi dua per tiga volumenya saja.
- 3.7.5. Kantong plastik diikat rapat dengan tali dan diberi label keterangan isinya. Pegang kantong plastik pada bagian leher ikatannya.
- 3.7.6. Bakar sampah beserta kantong plastiknya ke dalam insinerator atau dikubur dengan kedalaman paling sedikt satu meter. Jika dikubur, siram area penguburan dengan air deterjen setelah dikubur.

### 3.8 Tempat dan Waktu penelitian

#### 3.8.1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian metode dilusi cair dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

#### 3.8.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2010

### 3.9 Analisis Hasil

Hasil pengamatan *Salmonella typhi* pada media Muller Hinton pada masing-masing konsentrasi tidak ditemukan adanya kuman, sehingga tidak dapat di analisis dengan uji hipotesis Anova satu jalan, sehingga data di disajikan secara deskriptif.



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1.HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 15 medium, yang terdiri dari kelompok kontrol (3 medium) dan kelompok yang diberi perlakuan madu dalam berbagai konsentrasi. Penelitian ini diselenggarakan pada tanggal 10-12 Mei 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan didapatkan hasil penelitian sebagai berikut:

Tabel 4.1 Kekeruhan dalam Berbagai Konsentrasi

Pengulangan	Kadar 25%	Kadar 50%	Kadar 75%	Kadar 100%	Kontrol (-)
1	Keruh	Agak keruh	Jernih	Jernih	Keruh
2	Keruh	Agak keruh	Jernih	Jernih	Keruh
3	Keruh	Agak keruh	Jernih	Jernih	Keruh

Tabel 4.1 menunjukkan kelompok kontrol mengalami kekeruhan, pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi madu 25% menunjukkan kekeruhan, pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi madu 50% menunjukkan agak keruh, pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi madu 75% menunjukkan jernih, demikian juga pada perlakuan dengan konsentrasi madu

100% menunjukkan hasil yang jernih. Jernih mengindikasikan bahwa bakteri telah terhambat atau terbunuh oleh agen antibiotik.

Table 4.2 Daya Bunuh Madu terhadap *Salmonella typhi*

Pengulangan	Kadar 75%	Kadar 100%
1	0	0
2	0	0
3	0	0

Hasil pengamatan *Salmonella typhi* pada media Muller Hinton agar pada masing-masing konsentrasi tidak ditemukan adanya kuman maka tidak dapat di analisis lebih lanjut, sehingga data di disajikan secara deskriptif.

#### 4.2. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian sediaan madu dapat membunuh bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi 75% dan 100%. Pada kedua konsentrasi tersebut tidak ditemukan kuman *Salmonella typhi*.

Dari penelitian ini tidak didapatkan adanya kuman pada kedua konsentrasi tersebut. Hal ini dapat menunjukkan bahwa pada konsentrasi diatas sediaan madu dapat membunuh *Salmonella typhi*. Di dalam madu terdapat kandungan senyawa radikal hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Madu mempunyai enzim glukose oxidase yang mampu mengubah glukosa,  $H_2O$  dan  $O_2$  bebas menjadi asam glukonat dan hydrogen peroksida. Sehingga keberadaan enzim

dapat meningkatkan jumlah hydrogen peroksida di dalam madu (Molan, 2001). Madu mengandung enzim katalase yang akan mengubah hydrogen peroksida yang menimbulkan antibakteri menjadi air dan oksigen. Hydrogen peroksida mampu membunuh bakteri melalui reaksi degenerasi oksidatif. Reaksi ini akan merusak lipid dan protein membrane sel bakteri sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri tersebut. Madu memiliki aktivitas sebagai antibiotik karena madu memiliki kadar air yang relatif rendah yakni kurang dari 20% dan kadar gula yang tinggi, terdiri dari glukosa 34%, fruktosa 40,54% dan sukrosa 1,9% mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri, sehingga bakteri tersebut tidak mampu beraktivitas, oleh karena sel bakteri yang hidup (protoplasma) akan terlepas dari dinding sel. kondisi tersebut sangat tidak mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme karena menimbulkan efek osmosis yang dapat membunuh mikroorganisme ( Suranto, 2007). Kemampuan madu sebagai antimikroba yang lain adalah madu memiliki kadar pH yang rendah sehingga bersifat asam yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Rosita, 2007).

Penelitian ini menggunakan konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini berpedoman pada hasil penelitian Jawetz dkk pada tahun 1986 tentang madu yang menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 30%. Sebagai pedoman diambil satu konsentrasi dibawahnya yaitu 25% dan tiga konsentrasi diatasnya yaitu 50%,

75%, dan 100%. Sehingga dalam penelitian ini digunakan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Beda penelitian ini dengan penelitian Yesika (2007) dan Zabrina (2009) adalah pada jenis spesiesnya. Penelitian ini menggunakan *Salmonella typhi* dimana pada konsentrasi 75% sudah mampu membunuh *Salmonella typhi*, sedangkan pada penelitian Yesika (2007) madu mempunyai pengaruh terhadap *Tricophyton mentagrophytes* pada konsentrasi 100%. Penelitian Zabrina (2009) madu mempunyai pengaruh pada konsentrasi 50%. Kemampuan madu dalam membunuh yang berbeda ini disebabkan karena rumus antigenik masing-masing bakteri berbeda. Penelitian Mulyowati (2005) tentang uji antibakteri madu terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* menyatakan Rerata diameter zona hambat sebesar 21,98 menunjukkan bahwa madu mampu menghambat dan membunuh bakteri *Salmonella typhi*. Beda dengan penelitian ini adalah Uji yang digunakan pada penelitian tersebut adalah uji sensitivitas cakram atau lebih dikenal dengan metode Kirby-Bauer. Cara ini banyak digunakan karena sediaan lebih praktis dan cara pengamatannya lebih mudah (Struthers dan Westran, 2004). Namun manfaatnya sangat kecil bila diaplikasikan secara klinis karena uji sensitivitas cakram hanya memberikan petunjuk kualitatif mengenai tingkat sensitivitas atau resistensi suatu kuman yang diisolasikan (Hart dan Shears, 1996). Cara lain yang bisa digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri suatu zat adalah

metode dilusi. Metode ini jarang digunakan karena sediaan tidak praktis dan membutuhkan ketelitian tinggi saat pengamatan sehingga tidak cocok jika digunakan dalam penelitian yang bersifat rutin (Struthers dan Westran, 2004). Namun metode ini mempunyai kelebihan dibandingkan metode difusi cakram yang biasa digunakan. Metode dilusi lebih bersifat kuantitatif sehingga memungkinkan untuk menentukan konsentrasi penghambatan minimum dan konsentrasi daya bunuh minimum. Penetapan konsentrasi ini penting terutama pada penyakit infeksi serius dan pada penggunaan antimikroba dengan keracunan yang berkaitan dengan dosisnya (Hart dan Shears, 1996).

Penelitian ini mempunyai manfaat bagi pengembangan pengetahuan bahwa madu dapat digunakan sebagai antibiotik. Selain itu juga dapat memberikan informasi pada masyarakat bahwa madu merupakan salah satu media alternatif dalam mengatasi penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* seperti demam tifoid.

Dalam melakukan penelitian ini penulis menghadapi beberapa kendala, diantaranya adalah kurangnya referensi yang mendukung penelitian ini terutama yang berhubungan dengan daya bunuh madu terhadap *Salmonella typhi*. Referensi yang penulis dapatkan selama ini hanya berkisar mengenai manfaat madu secara umum. Rentang konsentrasi madu 25%, 50%, 75%, dan 100% terlalu jauh sehingga dalam penelitian ini tidak dapat

diketahui Kadar Bunuh Minimal madu terhadap *Salmonella typhi* yang lebih spesifik.

Penelitian hanya melakukan penelitian tentang pengaruh madu terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Dalam penelitian ini tidak diteliti efek samping yang berbahaya dari penggunaan madu terhadap manusia karena untuk meneliti efek samping tersebut, diperlukan waktu yang lama dan dana yang tidak sedikit.



## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

- 5.2.1. Secara in vitro, madu mempunyai daya bunuh terhadap *Salmonella typhi*.
- 5.2.2. Madu dalam konsentrasi 75% mempunyai daya bunuh minimal terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro.

#### **5.2. Saran**

- 5.2.1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jarak konsentrasi yang lebih dekat.
- 5.2.2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap efek antibiotik dari madu terhadap *Salmonella typhi* secara in vivo, sehingga nantinya madu ini dapat dijadikan alternative terapi bagi manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Angelia, Santoso, M., 2005, Pola Pengobatan Pada Pasien Demam Tifoid Di RSUD Koja Periode 2001-Juni 2005, Meditek, Vol.13 No.33, koja, 26-27.
- Brenner, D. J., Krieg, Noel R., 2009, Systematic Bacteriology, Volume 2, USA.
- Hart, T., Shears, P., 1996, *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 1, Hippokrates, Jakarta, 77 – 78
- Jawetz, E., Melnick, J., dan Adelberg, E. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, Buku 1, Edisi Pertama. Jakarta: Penerbit Salemba Medika. 92–95, 230–235, 353–357, 364–369
- Karsinah, Lucky, H.M., Suranto., dan Mardiasuti .,2009, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Edisi revisi*, Staf pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal 201- 208
- Leman, M.2004, *Hindari Penyalagunaan Antibiotik*  
<http://leman.or.id/martinleman.htm>, dikutip tanggal 29 januari 2009
- Molan, P.C., 2001, *Honey As Antimicrobial Agent*.  
[http://bio.walikota.ac.nz/honey/honey\\_intro.shtml](http://bio.walikota.ac.nz/honey/honey_intro.shtml) dikutip tanggal 12.12.2009
- Muliawan, S.Y., Surjawidjaja, J.E, 1999, Tinjauan ulang peranan uji widal sebagai alat diagnostic penyakit demam tifoid di rumah sakit  
[www.kalbe.co.id/files/cdk/files/08TinjauanUlangPerananUjiWidal24.pdf](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/08TinjauanUlangPerananUjiWidal24.pdf)  
[08TinjauanUlangPerananUjiWidal24.htm](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/08TinjauanUlangPerananUjiWidal24.htm), dikutip tanggal 12 juli 2010
- Nurjahyanti, D.S., 2006, Studi Biologi Molukuler Resistensi Salmonella typhi Terhadap Kloramfenikol,  
<http://www.adlh.ums.ac.id/gdl.php?id=gdlhub-gdl-s3-2007-nurtjahyan-3931&width=400&PHPSESSID=735f99a341908093de36c>, dikutip tanggal 7 juni 2010
- Pertiwi, A., 2004, *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Buah Kapulaga (Amomum cardamomum willad)bterhadap Staphylococcus aureus Multiresisten Antibiotik dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*

<http://etd.library.ums.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jtptums-gdl-sl-2007-ambarperti-7281>, dikutip tanggal 22 juni 2009

Pratiknya, A.W., 2003, *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*, Edisi 1, Cetakan 5, PT Raja Grafindo Persada, Jakarta, 129-130

Rampengan, 2007, *Penyakit Infeksi Tropik Pada Anak*, EGC, Jakarta, hal 51.

Riyanti, R., Prihatini, Rochmatoen, S., 2008, *Uji Cepat (Rapid Test) Antibodi Ig M Terhadap Salmonella typhi Demam tifoid*, Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, 109

Rostita, 2007, *Berkat Madu Sehat, Cantik, dan Penuh Vitalitas*, Bandung, 27-44.

Shintawati, R., 2006, *Nilai Diagnostik Pemeriksaan Widal Tunggal Berdasarkan Waktu Pengambilan Sampel Darah Pada Penderita Tersangka Demam Tifoid*, Medika Kartika, Vol.4, No.1

Soedarmo, 2008. *Buku Ajar Infeksi & Pediatri Tropis edisi kedua*, Badan Penerbit IDAI, Jakarta, 338-345

Struthers, J.K., Westran, R.P., 2004, *Clinical Bacteriology*, Physician press, Massachusetts, 50-52.

Suranto A, 2007, *Terapi Madu*, Penebar Swadaya, Depok Jakarta, 6,15-17, 33, 35-36,40

Widodo, D., 2006, *Ilmu Penyakit Dalam, Jilid III, Edisi IV.*, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI, Jakarta, Hal 1752- 1754.