

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Madu

Dalam Islam, madu dan produk lainnya dikenal sebagai sebuah pelajaran bagi manusia yang mau berfikir, yakni tentang penciptaan lebah dan madu. Dan Tuhanmu mengilhamkan kepada lebah,” *Buatlah sarang di gunung- gunung, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibuat manusia.*”

Kemudian, makanlah dari segala macam buah-buahan, lalu tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan bagimu. Dari perut lebah itu, keluar minuman yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda bagi orang yang berfikir (QS Al-Nahl ayat 68-69).

Oleh karenanya, dalam (Al-Qur’an [16]:68-69) tersebut di atas, Allah SWT secara khusus memperkenalkan manfaat lebah dan produknya kepada umat manusia untuk digunakan sebagai penyembuh berbagai macam penyakit (Suranto, 2004).

Madu adalah cairan yang dihasilkan oleh lebah dari berbagai tanaman (sari bunga). Setiap sari yang menghasilkan madu memiliki warna, rasa, aroma, dan manfaat yang berbeda. Sebelum menjadi madu ada empat tahap yang

harus dilalui. Pertama, lebah mengumpulkan nektar dari tanaman. Kedua, nektar yang dihasilkan kemudian diubah oleh lebah menjadi gula *invert* yang terjadi ketika ada kontak antara nektar dan cairan saliva lebah pada saat lebah menghisap nektar dengan belalainya. Cairan saliva lebah mengandung enzim-enzim hidrolase sehingga pada tahap ini terjadi pemecahan gula. Ketiga, lebah mengurangi kandungan air pada madu. Keempat, lebah mematangkan madu di sarang lebah (Murtidjo, 1991; Purbaya, 2002).

Madu dinamakan sesuai dengan sumber pakan lebahnya contohnya, lebah yang hidup di perkebunan kapas menghasilkan madu yang diberi nama madu kapas, madu rambutan, madu lengkung, dan madu mangga. Madu mengandung banyak mineral seperti natrium, kalsium, magnesium, aluminium, besi, fosfor, dan kalium (Suranto, 2004).

Vitamin-vitamin yang terkandung dalam madu adalah thiamin (B1), riboflavin (B2), asam askorbat (C), piridoksin (B6), niasin, asam patotenat, biotin, asam folat, dan vitamin K. Sedangkan enzim yang penting dalam madu adalah enzim diastase, enzim invertase, enzim glukosa oksidase, enzim peroksidase, dan enzim lipase. Rumus kimia madu adalah $C_6H_{12}O_6$. Nilai kalori madu sangat tinggi yaitu 3280 kal/kg. Kandungan gula dalam madu mencapai 80% dan dari gula tersebut 85% berupa fruktosa dan glukosa (Sarwono, 2001; Suranto, 2004).

Secara umum madu berkhasiat untuk menghasilkan energi, meningkatkan daya tahan tubuh, dan meningkatkan stamina. Banyak penyakit yang dapat disembuhkan oleh madu, diantaranya penyakit lambung, radang usus,

penyakit jantung, dan hipertensi (Suranto, 2004). Selain itu di dalam madu terdapat zat asetil kolin yang dapat melancarkan metabolisme seperti memperlancar peredaran darah dan menurunkan tekanan darah. Walaupun madu memiliki pH yang rendah, ternyata madu dapat meningkatkan pH lambung, hal ini disebabkan karena madu mengandung mineral yang bersifat alkali dan berfungsi sebagai buffer. Kandungan mineral magnesium dalam madu ternyata sama dengan kandungan magnesium yang ada dalam serum darah manusia. Komposisi kimia madu dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Komposisi kimia madu

Komposisi	Jumlah
Kalori	328 kal
Kadar air	17,2 g
Protein	0,5 g
Karbohidrat	82,4 g
Abu	0,2 g
Tembaga	4,4-9,2 mg
Fosfor	1,9-6,3 mg
Besi	0,06-1,5 mg
Mangan	0,02-0,4 mg
Magnesium	1,2-3,5 mg
Thiamin	0,1 mg
Riboflavin	0,02 mg
Niasin	0,20 mg
Lemak	0,19 mg
Ph	3,9
Asam total (mek/kg)	43,1 mg

(Suranto, 2004).

Madu mengandung zat antibakteri sehingga baik untuk mengobati luka luar dan penyakit infeksi. Salah satu sifat madu adalah *perservatif* atau bersifat mengawetkan. Selain itu madu juga memiliki sifat osmolalitas yang tinggi sehingga bakteri sulit hidup, sifat ini terdapat pada madu murni dan sifat

higrokopis yaitu menarik air dari lingkungan sekitar, dengan sifat ini madu dapat dipakai untuk mengompres luka luar seperti borok akibat infeksi (Jarvis, 1995; Purbaya, 2002).

Kualitas madu ditentukan oleh cara pemanenan madu, warna madu, cita rasa madu, jenis madu, komposisi madu, dan kadar air. Madu yang bagus memiliki kadar air 17,5% (Purbaya, 2002). Berikut ini mutu madu yang memenuhi syarat nasional Indonesia adalah:

Tabel 2. Syarat mutu madu nasional

Komponen	Batas
Kadar air (%)	Maksimum 22
Abu (%)	Maksimum 0,25
Kadar dekstrin (%)	Maksimum 0,5
Keasaman (%)	Maksimum 40
HMF (%)	Maksimum 40
Padatan yang tidak larut air (%)	Maksimum 0,5
Frukosa dan Glukosa (%)	Minimum 60
Sokrosa (%)	Maksimum 8
Cita rasa dan aroma	Normal
Logam-logam berbahaya	Negatif

(Purbaya, 2002).

Standar mutu madu salah satunya didasarkan pada kandungan gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) total yaitu minimal 60%. Sedangkan, jenis gula pereduksi yang terdapat pada madu tidak hanya glukosa dan fruktosa, tetapi juga terdapat maltosa dan dekstrin. Sementara itu proses produksi madu oleh lebah itu sendiri merupakan proses yang kompleks, sehingga kemungkinan besar terjadi perbedaan kadar dan komposisi gula pereduksi diantara berbagai jenis madu yang beredar dimasyarakat. Komposisi gula pereduksi tiap-tiap

madu kemungkinan dapat mempengaruhi khasiat madu terutama dalam proses pengobatan (Jarvis, 1995; Purbaya, 2002).

Glukosa yang terdapat di dalam madu berguna untuk memperlancar kerja jantung dan dapat meringankan gangguan penyakit hati (lever). Glukosa dapat diubah menjadi glikogen yang sangat berguna untuk membantu kerja hati dalam menyaring racun-racun dari zat yang sering merugikan tubuh. Selain itu, glukosa merupakan sumber energi untuk seluruh sistem jaringan otot. Sedangkan, fruktosa disimpan sebagai cadangan dalam hati untuk digunakan bila tubuh membutuhkan dan juga untuk mengurangi kerusakan hati (Sarwono, 2001; Purbaya, 2002).

Fruktosa dapat dikonsumsi oleh para penderita diabetes karena transportasi fruktosa ke sel-sel tubuh tidak membutuhkan insulin, sehingga tidak mempengaruhi keluarnya insulin. Di samping itu, kelebihan fruktosa adalah memiliki kemanisan 2,5 kali dari glukosa (Winarno, 1982; Lehninger, 1990).

Madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, dan *S. aureus*. Hal ini terlihat dari zona penghambatan yang dihasilkan oleh madu yang diberikan pada media yang telah ditanam bakteri-bakteri tersebut (Taormina *et al*, 2001). Aktivitas antibakteri yang dimiliki madu disebabkan karena beberapa hal, diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Efek osmotik

Aktivitas antibakteri madu disebabkan karena adanya efek osmotik antara madu dengan air dimana dalam proses ini terjadi perpindahan air melalui

membran permeabel sel bakteri dari bagian yang lebih encer ke bagian yang lebih pekat. Interaksi yang kuat antara molekul gula dengan molekul air menghasilkan air bebas yang kecil untuk pertumbuhan bakteri. Air bebas ini terukur sebagai aktivitas air (a_w). Dengan aktivitas air (A_w) yang rendah, hal ini berarti madu mengandung sedikit air dan kurang mendukung pertumbuhan bakteri. Beberapa spesies bakteri dapat tumbuh pada medium dengan A_w antara 0,94-0,99, sedangkan nilai A_w madu sekitar 0,56-0,62.

2. Keasaman

Aktivitas antibakteri madu dapat juga disebabkan karena keasamannya. Madu memiliki karakter yang cukup asam (pH 3,2-4,5) sehingga dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen yang mempunyai pH minimum pertumbuhan sekitar 7,2 - 7,4, seperti *E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Streptococcus pyogenes*. Kisaran nilai keasaman tersebut cukup rendah untuk dijadikan sebagai penghambat bakteri. Ini terjadi pada madu yang masih kental atau belum diencerkan.

3. Hidrogen peroksida

Aktivitas antibakteri madu disebabkan karena adanya senyawa hidrogen peroksida yang dihasilkan secara enzimatis pada madu. Glukosa oksidase merupakan enzim yang diekskresikan oleh lebah untuk menghasilkan madu dari nektar. Enzim ini merubah glukosa menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida yang dihasilkan dari reaksi berikut:



Enzim glukosa oksidase dikeluarkan dari kelenjar *hipofaring* lebah ke dalam nektar untuk membantu pembentukan madu dari nektar.

4. Faktor fitokimia

Beberapa senyawa fitokimia diduga juga berperan pada aktivitas antibakteri madu. Senyawa fitokimia adalah senyawa yang ditemukan pada tumbuhan yang tidak dibutuhkan untuk fungsi normal tubuh, tetapi memiliki efek yang menguntungkan bagi kesehatan atau memiliki peran aktif bagi pencegahan penyakit. Beberapa kandungan kimia dengan aktivitas antibakteri telah diidentifikasi pada madu yaitu: pinosembrin, terpen, benzil alkohol, 3,5-dimetoksi-4-asam hidroksibenzoat (asam siringat), metil-3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoat (metil siringat), 3,4,5 asam trimetoksi benzoat, 2-hidroksi-3-asam fenil propionat, 2-asam hidroksi benzoat, dan 1,4-dihidroksibenzen (Molan, 1992).

B. Propolis

Propolis adalah sejenis resin yang karena bentuknya lengket seperti lem, disebut sebagai lem lebah. Propolis sebenarnya dihasilkan lebah dengan cara mengumpulkan resin-resin dari berbagai macam tumbuhan, kemudian resin ini bercampur dengan saliva dan berbagai enzim yang ada pada lebah sehingga menjadi resin yang berbeda dengan resin asalnya. Karena sumbernya bermacam-macam, maka warna, komposisi, dan khasiat propolis bisa bervariasi. Propolis bisa berwarna kuning sampai coklat tua, bahkan ada yang transparan. Komposisi kimia propolis terdiri dari flavonoid yang meliputi

hampir 50% dari komposisi propolis, asam kafeat, asam ferulat, dan mineral dalam jumlah kecil (Suranto, 2004). Berikut beberapa komposisi kimia propolis:

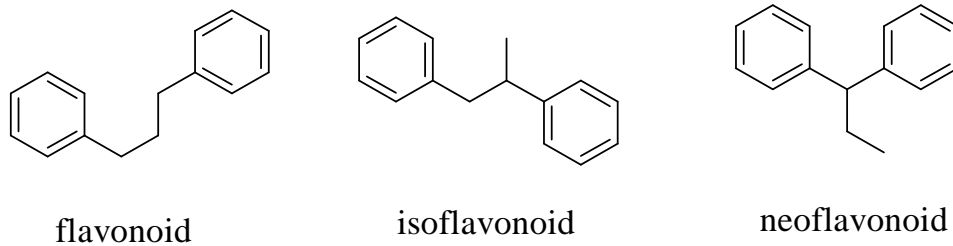
Tabel 3. Komposisi kimia propolis

Kelas komponen	Grup Komponen	Persentase (%)
Resin	Flavonoid, asam fenolat, ester	45 – 55
Asam lemak, lilin	Lilin lebah dan zat lain yang berasal dari tumbuhan	25 – 35
Minyak esensial	Zat yang mudah menguap	10
Polen	Protein (16 asam amino bebas, >1%) arginin, dan prolin sebanyak 46%	5
Bahan organik dan mineral lain	14 mineral (besi, seng, kadmium, lakton, quinon, steroid, asam benzoik, vitamin, gula)	5

(Suranto, 2004).

Komponen utama dari propolis adalah flavonoid dan asam fenolat. Flavonoid terdapat hampir disemua spesies bunga. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Golongan flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan (Suranto, 2004).

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid (1,3-diaril propana), isoflavonoid (1,2-diaril propana), neoflavonoid (1,1-diaril propana) seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tiga jenis flavonoid (Lenny, 2006)

Flavonoid mempunyai manfaat yang beragam terhadap organisme sehingga tumbuhan yang mengandung flavonoid umumnya digunakan dalam pengobatan tradisional. Jenis flavonoid yang terpenting dalam propolis adalah pinosembrin dan galangin. Kandungan kimia flavonoid dalam propolis sedikit berbeda dengan flavonoid dari bunga karena adanya suatu proses yang dilakukan oleh lebah. Kandungan flavonoid dalam propolis bervariasi sekitar 10-20%. Kandungan tersebut merupakan yang terbanyak dibandingkan kandungan flavonoid dalam produk lebah lain (Winingsih, 2004).

Penggunaan propolis sebagai obat sebenarnya sudah dilakukan sejak abad ke 12. Orang-orang Yunani dan Romawi telah menggunakan propolis untuk mengobati bengkak. Orang Mesir selain menggunakan propolis sebagai obat, juga memakainya sebagai perekat pada pembuatan *kano*. Bagi lebah sendiri propolis berfungsi melindungi seluruh sarang dan tempat lebah ratu menyimpan telurnya dari hama yang menyebabkan kebusukan telur-telurnya yaitu *Bacillus larvae*. Hal inilah yang mendasari digunakannya propolis sebagai antibiotik. Kemudian dilakukan berbagai penelitian mengenai efek antibiotik propolis terhadap berbagai mikroba. Hasil penelitian yang dimulai Karimova sejak tahun 1975 terhadap *Bacillus dekoeh* dan kemudian diikuti

peneliti-peneliti lain menunjukkan, propolis memiliki efek bakterisidal terhadap *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Streptomyces sobrinus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli*, *Salmonella*, dan *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodocuc*, *Klebsiella pneumoniae*, selain itu juga efektif sebagai fungisida pada *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, dan *Ascospaera apis*. Unikny hasil penelitian menunjukkan, propolis lebih efektif bila diuji efeknya secara *in vivo* daripada *in vitro*. Hal ini disebabkan karena propolis bisa berfungsi sebagai imunostimulan atau dapat meningkatkan daya tahan tubuh, yang merangsang fungsi berbagai organ dan menginduksi sistem pertahanan tubuh menjadi lebih kebal terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Winingsih, 2004).

Propolis umumnya memiliki warna kuning sampai coklat tua, bahkan ada yang transparan. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan kadar flavonoidnya. Propolis sangat dipengaruhi oleh temperatur. Pada temperatur di bawah 15 °C propolis bersifat keras dan rapuh, tapi akan kembali lebih lengket pada temperatur yang lebih tinggi (25-45 °C). Propolis umumnya meleleh pada temperatur 60-69 °C dan beberapa sampel mempunyai titik leleh di atas 100 °C (Woo, 2004).

Propolis adalah bagian non polar dari madu. Jika madu bisa larut dalam air, bisa bercampur dengan air (bersifat polar), propolis tidak demikian halnya, sifatnya mirip minyak, balsam atau lilin, tidak larut dalam air dan hanya menerima zat-zat yang mau larut di dalamnya. Namun propolis bisa bercampur dengan madu, karena sifat madu yang kental. Propolis juga

mengandung berbagai macam mineral sebagaimana madu, sementara kandungan gulanya jauh lebih rendah dibandingkan madu karena propolis sifatnya non polar atau tidak larut air, sehingga sulit saling berkelarutan dengan gula (Gunawan, 2010).

Persentase lebah pekerja yang mengumpulkan propolis sangat rendah tetapi dilakukan setiap saat. Di lokasi sumber, lebah pekerja pencari propolis menggigit propolis dengan mandibulanya (rahang bawah) dan dengan bantuan sepasang kaki pertamanya. Propolis ditransfer ke keranjang polen, kegiatan ini membutuhkan waktu 15-60 menit. Di dalam sarang, lebah penjaga sarang memindahkan propolis dan meraciknya, serta kadang ditambahkan sedikit lilin yang kemudian diangkut pada tempat yang membutuhkan ataupun disimpan sebagai cadangan. Lebah madu jenis Kaukasian mempunyai kemampuan mengumpulkan propolis yang lebih banyak (Gojmerac, 1983).

C. Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri adalah senyawa kimia yang diperoleh dari mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan atau aktivitas bakteri (Jay, 1992). Senyawa antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri), dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri) (Fardiaz, 1992).

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri ada beberapa cara yaitu: (1) merusak dinding sel sehingga menyebabkan terjadinya lisis; (2) mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran zat nutrisi dari dalam sel; (3) denaturasi protein sel; dan (4) merusak metabolisme sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler (Prindle, 1983).

Senyawa fenolik, alkohol, halogen, logam berat, detergen, dan senyawa amonium kuartener adalah senyawa kimia yang memiliki sifat sebagai antibakteri. Senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri dengan mekanisme kerja sebagai berikut:

- (1) Alkohol: mendenaturasi protein, merusak struktur lemak dan membran sel bakteri.
- (2) Halogen: terdiri dari yodium, klor, dan bromin: mengoksidasi dan merusak organel yang penting dari sel bakteri.
- (3) Logam berat: menginaktifkan protein seluler.
- (4) Detergen: merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran bahan intraseluler.
- (5) Senyawa amonium kuarterner: mendenaturasi protein, mengganggu proses metabolisme dan merusak membran sitoplasma.
- (6) Senyawa fenolik: merusak sel bakteri dengan mengubah permeabilitas membran sitoplasma, menyebabkan kebocoran bahan-bahan intraseluler. Senyawa ini juga mendenaturasi dan menginaktifkan protein seperti enzim (Pelczar *et al.*, 1993).

Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel bakteri. Komponen fenol juga dapat mendenaturasi enzim yang bertanggung jawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah. Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran nutrisi sel dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipida) serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofobik yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran (Prindle, 1983).

Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme. Kemampuan senyawa non polar seperti trigliserida, minyak atsiri dan senyawa terpenoid dalam menghambat bakteri diduga karena senyawa non polar dapat menyebabkan perubahan komposisi membran sel dan terjadinya pelarutan membran sel, sehingga membran sel mengalami kerusakan. Selain itu, komponen non polar juga dapat berinteraksi dengan protein membran yang menyebabkan kebocoran isi sel (Sikkema *et al.*, 1995).

D. Sel Prokariotik

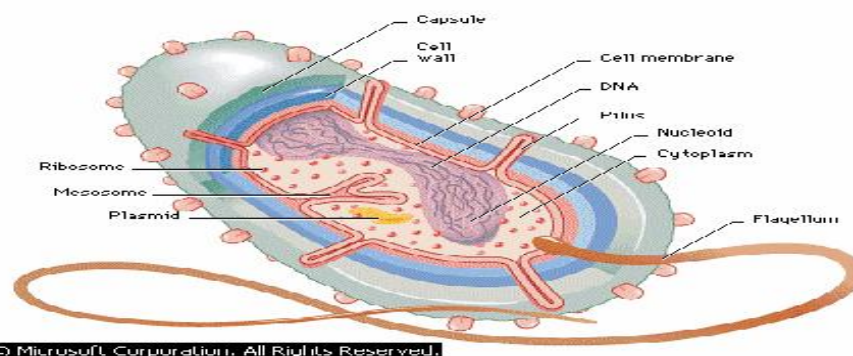
Sel pada makhluk hidup berdasarkan struktur selnya dibedakan menjadi dua kelompok yaitu kelompok sel prokariotik dan sel eukariotik. Sel eukariotik memiliki kompartemen sitoplasma yang dikelilingi membran nukleus yang jelas untuk melindungi DNA, sedangkan sel prokariotik tidak memiliki membran nukleus yang jelas untuk melindungi DNA. Kebanyakan sel prokariotik berukuran kecil dan berpenampilan sederhana dan hidup sebagai individu independen atau dalam komunitas yang terorganisasi secara longgar. Jenis ini berbentuk *sferis* atau batang, berukuran beberapa mikrometer dalam dimensi linear. Sel prokariotik juga memiliki lapisan perlindungan yang kuat, dinding sel, dan di bawah dinding sel terdapat membran plasma yang menutupi kompartemen sitoplasma tunggal yang berisi DNA, RNA, protein-protein, dan banyak molekul lain yang penting untuk kehidupan (Alberts, 2008).

Membran plasma mempunyai struktur dasar yakni terdiri dari molekul lipida dan protein yang berinteraksi dengan ikatan nonkovalen dan terorganisasi secara mosaik, lipida sebagai matriks dan protein terletak di dalam matriks lipida. Lipida membentuk lapis ganda tebal yang berfungsi sebagai barier impermeabel terhadap ion dan molekul/partikel yang larut dalam air.

Lipida yang menyusun membran plasma terdiri dari: fosfolipida yang membangun bagian terbesar membran sel. Ia merupakan molekul amfifatik, memiliki bagian polar dan non polar, yang membentuk struktur lapis ganda,

bagian hidrofilik berada di permukaan berinteraksi dengan luar membran sel maupun sitoplasma, sedangkan bagian hidrofobik membentuk matriks di bagian dalam, struktur ini seperti *micelle*. Permukaan luar membran sel umumnya disusun oleh fosfolipida netral yakni fosfatidilkholin, fosfatidil etanolamin, spingomielin, dan galaktoserebrosid. Permukaan dalam disusun oleh fosfolipida asam yakni fosfatidil inositol, fosfatidil serin, kardiolipin, dan fosfatidil gliserol (Kuehnel, 2003).

Bakteri adalah contoh makhluk hidup prokariotik. Bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniselular, termasuk kelas *Schizomycetes*, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan (Pelczar *et al.*, 1986). Berdasarkan perbedaan struktur dinding sel, bakteri dibagi menjadi dua golongan yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, anatomi bakteri dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Anatomi Umum dari Bakteri (Wolfe, S.L. 1993).

D.1. Bakteri gram positif

Bakteri gram positif adalah bakteri yang memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat. Peptidoglikan merupakan polimer dari asam N-asetilglokosamin (NAG), asam N-asetilmuramat (NAM), dan suatu péptida yang disebut asam diaminopimelat, yang tersusun atas asam amino L-alanin, D-alanin, D-glutamat, dan L-lisin. Dalam pengecatan gram, bakteri gram positif berwarna ungu, setelah perlakuan dengan etanol, kompleks ultra violet-yodium terperangkap dalam dinding sel (Sardjono, 2003).

Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipida dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. (Jawetz *et al.*, 2005).

Pada penelitian ini bakteri gram positif yang digunakan adalah *S. aureus*. *S. aureus* adalah bakteri gram positif yang termasuk dalam genus *Staphylococcus*. Bakteri ini berbentuk kokus dengan suhu optimal pertumbuhan 37-40 °C, pH optimum 6,0-8,0 dan aktivitas air (a_w) minimum 0,86 (Jay, 1992). *S. aureus* merupakan bakteri flora normal yang terdapat pada permukaan kulit, rambut, hidung, mulut, dan tenggorokan. *S. aureus*

dapat menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan (Blackburn and McClure, 2002).

S. aureus tumbuh secara anaerobik fakultatif, tidak berkapsul, tidak motil, dan tidak membentuk spora. Kumpulan sel-selnya menyerupai buah anggur. *S. aureus* juga tahan garam dan tumbuh baik pada medium yang mengandung 7.5% NaCl. Bakteri ini memproduksi enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan (Fardiaz, 1983).

D.2. Bakteri gram negatif

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang memiliki lapisan luar, lipo polisakarida yang terdiri atas membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis yang terletak pada periplasma (diantara lapisan luar dan membran sitoplasmik) (Fardiaz, 1983).

Bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipida, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipida (lapisan dalam), dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipida, yang bersifat nonpolar (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan jauh lebih sedikit, dan peptidoglikan ini mempunyai ikatan silang yang jauh kurang ekstensif dibandingkan dengan bakteri gram positif, karenanya pori-pori

peptidoglikan bakteri gram negatif tetap cukup besar setelah perlakuan dengan etanol, sehingga kompleks ultra violet-yodium terekstraksi.

Ekstraksi ini menyebabkan cat utama (kristal ultra violet) dan yodium yang semula tertangkap dinding sel, menembus masuk. Akibatnya dinding sel menangkap cat penutup (safranin) yang berwarna merah (Sardjono, 2003).

Pada penelitian ini bakteri gram negatif yang digunakan adalah *E. coli*.

Bakteri *E. coli* termasuk bakteri gram negatif yang berukuran panjang 2.0 - 6.0 mikron dan lebar 1.1 – 1.5 mikron. Bakteri ini ditemukan dalam bentuk tunggal atau berpasangan, bersifat motil atau non motil (Fardiaz, 1983).

Bakteri *E.coli* merupakan bakteri gram negatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *E. coli* bersifat aerobik dan fakultatif anaerobik.

Bakteri ini dapat tumbuh optimum pada suhu 35-40 °C dan pada aktivitas air (a_w) minimum 0,95 dan pH optimum 4,4 (Blackburn and McClure, 2002).

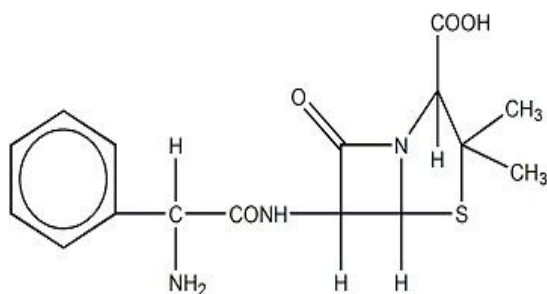
E. Antibiotik Ampisilin

Ampisilin adalah antibiotik yang termasuk golongan penisilin. Penisilin merupakan salah satu bakterisida yang mekanisme kerjanya menghambat pembentukan dinding dan permeabilitas membran sel (Mutschler, 1991).

Ampisilin merupakan penisilin semisintetik yang stabil terhadap asam atau amidase tetapi tidak tahan terhadap enzim laktamase. Ampisilin mempunyai

keaktifan melawan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif dan merupakan antibiotik spektrum luas (Jawetz *et al.*, 2005).

Rumus kimia ampisilin $C_{16}H_{19}N_3O_4S$. Ampisilin menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih pada ikatan penisilin-protein (PBPs-Protein binding penisilin's), sehingga menyebabkan penghambatan pada tahapan akhir transpeptidase sintesis peptidoglikan dalam dinding sel bakteri, akibatnya biosintesis dinding sel terhambat dan sel bakteri menjadi pecah (lisis). Struktur ampisilin yaitu:



Gambar 3. Struktur ampisilin.
(Leli, S, 2011).

Ampisilin merupakan prototip golongan aminopenisilin berspektrum luas, tetapi aktivitasnya terhadap gram positif kurang daripada penisilin G. Semua penisilin golongan ini dirusak oleh laktamase yang diproduksi oleh bakteri gram positif maupun gram negatif. Bakteri *E. coli* dan *Proteus mirabilis* merupakan bakteri gram negatif yang sensitif, tetapi dewasa ini telah dilaporkan adanya bakteri yang resisten diantara bakteri yang semula sangat sensitif tersebut. Umumnya *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Asinobakter*, dan *Proteus indol* positif resisten terhadap ampisilin dan aminopenisilin lainnya (Jawetz *et al.*, 2005).

Ampisilin stabil terhadap asam karena itu dapat digunakan secara oral. Absorpsi relatif lambat, laju absorpsi sekitar 50%. Kadar darah maksimum dicapai setelah kira-kira dua jam. Waktu paruh plasma sekitar satu sampai dua jam, kurang lebih dua kali lebih lama dari pada benzilpenisilin. Ampisilin terutama digunakan pada infeksi saluran nafas, saluran urin dan empedu, pada *Otitis media*, *Pertusis*, dan *Septiliemia* yang peka terhadap ampisilin (Mutschler, 1991).

Apabila penggunaan antibiotik yang bebas dan tidak sesuai dengan indikasi, bakteri akan menghadapi masalah berupa kekebalan (resistensi) sehingga efek dari resistensi ini adalah dikhawatirkan obat tersebut sudah tidak lagi efektif saat terjadi infeksi yang membutuhkan antibiotik (Qimindra, 2008).

Penentuan sensitifitas antibiotik dapat dilihat pada tabel 4 berikut:

Tabel 4. Penentuan sensitivitas antibiotik (diameter zona hambat dalam mm)

Antibiotik	Resisten	Intermediet	Sensitif
Tetrasiklin	14	15-18	19
Cloproflokasin	15	16-20	21
Enokasin	14	15-17	18
Penisilin/ ampisilin	28		29
Staphylococcus Okasilin	10	11-12	13
Staphylococcus Tobramisin	12	13-14	15
Ceftriakone	13	14-20	21
Kanamisin	13	14-17	18
Clindamysin	14	15-20	21
Piperasilin gram negative	17	18-20	21
Ampisilin gram negative	13	14-16	17
Erythromisin	13	14-22	23

(Capuccino, J. G. and Natalie, S. 2000).

Resistensi adalah suatu sifat tidak terganggunya sel bakteri oleh antibakteri. Sifat ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah bakteri untuk bertahan hidup (Setiabudy dan Gan, 1995).

Resistensi dapat dibedakan menjadi resistensi bawaan (primer), resistensi dapatan (sekunder), dan resistensi episomal. Resistensi primer (bawaan) merupakan resistensi yang menjadi sifat alami bakteri. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya enzim pengurai antibiotik pada bakteri sehingga secara alami mikroorganisme dapat menguraikan antibiotik. Mekanisme resistensi bawaan ini juga dapat berupa terdapatnya struktur khusus pada bakteri yang melindunginya dari paparan antibakteri.

Mekanisme resistensi sekunder (dapatan) diperoleh akibat kontak dengan agen antibakteri dalam waktu yang cukup lama dengan frekuensi yang tinggi, sehingga memungkinkan terjadinya mutasi pada bakteri. Terbentuknya mutan yang resisten terhadap obat antibakteri dapat secara cepat (resistensi satu tingkat) dan dapat pula terjadi dalam kurun waktu yang lama (resistensi multi tingkat).

Resistensi episomal disebabkan oleh faktor genetik di luar kromosom yang dapat menular pada bakteri lain yang memiliki kaitan spesies melalui kontak sel secara konjugasi maupun transduksi (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri dengan strain yang resisten terhadap antibiotik memiliki kemampuan untuk berkembang dan memindahkan segmen DNA kepada bakteri lain sehingga meningkatkan aktifitas bakteri atau virulensinya. Pemindahan

segmen DNA ini dapat dilakukan melalui plasmid, transposon, maupun integron. Plasmid merupakan molekul DNA ekstrakromosomal yang kemudian direplikasi oleh bakteri dan akan diantar oleh transposon untuk berpindah ke plasmid lain. Integron adalah salah satu struktur DNA yang berperan dalam proses pemanjangan DNA (Pratiwi, 2008).

F. Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik

Ada dua macam metode untuk uji sensitivitas yaitu metode dilusi dan metode difusi.

1. Dilusi

Pada prinsipnya antibiotik diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Metode yang dipakai ada dua macam, yaitu metode dilusi kaldu disebut juga dengan dilusi cair dan metode dilusi agar atau dilusi padat. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman atau bakteri dalam media. Sedangkan dalam dilusi padat, tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar lalu ditanami bakteri. Pertumbuhan bakteri ditandai oleh adanya kekeruhan setelah 16-20 jam diinkubasi. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan dan disebut dengan konsentrasi hambat minimal (KHM). Masing-masing konsentrasi antibiotik yang menunjukkan hambatan pertumbuhan ditanam pada agar padat media pertumbuhan bakteri dan diinkubasi. Konsentrasi terendah dari antibiotik yang membunuh 99,9% inokulum bakteri disebut

konsentrasi bakterisida minimal (KBM) (Pratiwi, 2008).

2. Difusi

Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu:

a). Cara cakram kertas

Media agar dalam cawan petri diinokulasi dengan bakteri uji.

Sejumlah zat uji ditambahkan pada cakram kertas, lalu cakram-cakram tersebut diletakkan pada permukaan agar. Setelah diinkubasi beberapa lama, zat uji berdifusi dari cakram kertas ke dalam agar. Semakin jauh jarak difusi dari kertas saring, semakin kecil pula konsentrasi zat uji tersebut. Jika terdapat aktivitas antibakteri pada zat uji, maka pada media agar tersebut akan terlihat zona bening di sekeliling kertas cakram.

b). Cara tuang

Cara tuang dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri dengan media agar, lalu diambil satu mata *ose* dan dibuat pengenceran kemudian suspensi tersebut dibuat homogen dan dituang pada media agar. Setelah beku, kemudian media agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan kemudian diteteskan kedalam sumuran. Diinkubasi pada suhu 37C selama 18-24 jam (Jawetz *et al.*, 2001).