

---

## ISOLASI BAKTERI GRAM POSITIF PADA MADU LIAR SUMBAWA

### *Isolation Of Gram Positive Bacteria In Sumbawa Wild Honey*

Memo Andrianto<sup>1</sup>, Novarina Sulsia Ista'In Ningtyas<sup>2\*</sup>, Alfiana Laili Dwi Agustin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Animal Health Sumbawa, <sup>2</sup>Departemen Patologi Anatomi Veteriner Universitas Pendidikan Mandalika, <sup>3</sup>Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner Universitas Pendidikan Mandalika

\*Corresponding author: [novarina.istain@undikma.ac.id](mailto:novarina.istain@undikma.ac.id)

#### Abstrak

Sumbawa merupakan salah satu daerah yang dikenal sebagai daerah penghasil madu di Indonesia, salah satunya adalah madu liar. Madu liar adalah jenis madu yang habitatnya di alam liar. Cara pencarian madu di Sumbawa masih terbelang tradisional. Proses pengemasan madu liar juga masih menggunakan cara tradisional dari pengambilan sampai pengemasan yang masih tradisional tersebut memungkinkan terjadinya kontaminasi bakteri pada madu. Tujuan penelitian yaitu untuk mengisolasi bakteri gram positif pada madu liar Sumbawa. Penelitian ini menggunakan sampel madu yang berasal dari Sumbawa sebanyak 10 madu yang digunakan untuk isolasi bakteri gram positif pada madu liar Sumbawa kemudian ditampung dalam tabung sampel. Berdasarkan hasil penelitian dari 10 sampel madu liar Sumbawa yang diambil dari desa yang berbeda, semua sampel menunjukkan adanya bakteri gram positif.

**Kata kunci:** Madu Liar, Gram Positif, Sumbawa

#### Abstract

Sumbawa is one of the areas known as honey-producing areas in Indonesia, one of which is wild honey. Wild honey is a type of honey whose habitat is in the wild. How to find honey in Sumbawa is still fairly traditional. The process of packaging wild honey is also still using the traditional way from taking to packaging which is still traditional, which allows bacterial contamination of honey. The aim of the study was to isolate gram positive in Sumbawa wild honey. This study used 10 honey samples from Sumbawa which were used for isolation of gram-positive bacteria in Sumbawa wild honey and then accommodated in a sample tube. Based on the results of the study, it can be concluded that from 10 samples of Sumbawa wild honey taken from different villages there were gram-positive bacteria.

**Keywords:** Wild honey, Gram Positive, Sumbawa

#### Pendahuluan

Sumbawa merupakan salah satu daerah yang dikenal sebagai daerah penghasil madu di Indonesia, salah satunya adalah madu liar. Madu liar adalah jenis madu yang habitatnya di alam liar. Cara pencarian madu di Sumbawa masih terbelang tradisional. Proses pengemasan madu liar juga masih menggunakan cara tradisional dari pengambilan sampai pengemasan yang masih tradisional

tersebut memungkinkan terjadinya kontaminasi bakteri pada madu. Bakteri dapat menginfeksi jaringan dan organ lain serta menyebabkan penyakit. Infeksi bakteri adalah masalah kesehatan yang serius dan insiden infeksi bakteri telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir (Dewi, dkk. 2013).

Bakteri patogen yang menginfeksi manusia diantaranya yaitu bakteri *Clostridium botulinum*, *Salmonella thipy*

dan *Streptococcus aureus*. *Salmonella sp* merupakan akibat hygiene dan sanitasi makanan dan minuman yang kurang baik. Yang terjadi adalah diare (Salmi, 2006). Sedangkan *Streptococcus aureus* menyebabkan keracunan makanan karena adanya enterotoksin yang dihasilkan oleh *Streptococcus aureus*, terdapat makanan tercemar. Dampaknya kepala sakit, mual dan muntah-muntah (Rostinawati, 2009). Bayi di Eropa dilaporkan terkena kasus *Botulisme* pada riwayat konsumsi madu. Dalam 5 kasus infeksi *Clostridium botulinum* pada bayi ditemukan toksin dengan jenis yang sama seperti yang diisolasi dari bayi yang terinfeksi. Spora juga ditemukan telah terdeteksi dalam madu yang dijual di Amerika Serikat (10% dari sampel yang diuji), Jepang (8,5%), Brazil (7,5%) dan Italia (6,5%), dengan tingkat kontaminasi diperkirakan 5 hingga 80 spora/g produk, berdasarkan data ini, banyak organisasi kesehatan merekomendasikan agar bayi usia 1 tahun tidak diberikan madu.

Mengonsumsi madu yang mengandung bakteri memiliki dampak yang cukup besar, berupa kurang makan, lesu, ptosis, sembelit, hipotonia umum, perasaan lemah yang progresif, dan gangguan pernapasan. Gejala dari infeksi bakteri ini dapat muncul sekitar 8-36 jam setelah orang tua memberikan madu untuk anak. Namun, ada kasus tertentu dimana anak baru mengalami gejala infeksi bakteri *Clostridium botulinum* 14 hari setelah konsumsi madu yang sudah terkontaminasi (Arnon *et al.*, 1979).

## Materi dan Metode

### Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri, dengan rancangan penelitian menggunakan metode survei dengan rancangan *Cross sectional study*.

### Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah madu liar sumbawa yang diambil dari

hutan Sumbawa yang telah di peras dan dimasukan kedalam wadah berupa air botol mineral. Sampel yang diambil sebanyak 10 sampel madu yang berasal dari 10 Desa berbeda didaerah Sumbawa. Desa Alas (Marente), Desa Alas (Desa Luar), Desa Alas Barat (Mapin Rea), Desa Buer (Prenang), Desa Lopok (Langam), Desa Lape, Desa Hijrah, Desa Ai Mual, Desa Lempe, Desa Brang Biji.

### Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah bakteri yang terisolasi dan karekterisasi dari 10 sampel yang diperoleh

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2022, isolasi dan identifikasi bakteri dari madu sumbawa, sampel penelitian ini diambil dari pencari madu di Sumbawa, Kabupaten Sumbawa dengan penelitian yang akan dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi (BLKPK) Provinsi Nusa Tenggara Barat.

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *Coolbox*, tabung reaksi, autoclave, bunsen, jarum ose, pipet ukur kertas saring, objek glass, mikroskop, glove, cawab petri, pinset, mikroskop, objek glas, cover glass. Bahan bahan yang berupa madu liar sumbawa yang diambil masing masing 0,5 ml yang diambil dari 5 lokasi hutan disumbawa, media selektif, BAP (*Blood Agar Plate*), BHI (*Brain Heart Infusion*), bahan pewarnaan gram.

### Prosedur Penelitian

#### Pengambilan Sampel Madu Lebah

Madu dipisahkan dari botol air mineral kedalam ruang septika binet untuk menghindari bakteri atau debu ketika sedang bekerja. Ambil 1ml sampel madu masukan kedalam 9ml BHI. Sampel diaduk atau dicampur dengan mixer sampai tercampur dengan rata

dengan media BHI. Setelah dimixer, diinkubasi 35 °C 18 – 24 jam. Kemudian keringkan media, BAP,. Penanaman menggunakan ose dan lilin. Sebelum penanaman sampel dimedia sampel diaduk menggunakan mixer supaya tercampur rata. Dan ose yang telah dipisahkan masukan kedalam BSC (*Bio Savety Cabinet*). Setelah penanaman kemudian sampel diambil diletakan diobjek glas untuk dilakukan pewarnaan gram. Setelah pewarnaan gram lalu dilihat menggunakan mikroskop

### **Pemeriksaan Sampel**

#### **Prosedur Pewarnaan Gram**

Bahan pewarnaan gram digunakan terdapat 4 zat kimia yang berbeda yaitu alkohol, untuk mewarnai koloni bakteri, cairan dituang pewarna kristal violet pada preparat secara merata, ditunggu selama 1 menit, preparat dimiringkan dan bilas dengan sedikit air mengalir dan tunggu selama 1 menit. Preparat dimiringkan dan dibilas dengan sedikit air mengalir, dekolorisasi dilakkan dengan cara

meneteskan cairan dekolorisasi sedikit demi sedikit pada preparat hingga tidak ada zat warna yang mengalir keluar dari preparat dengan cara prepatar dibilas dengan air mengalir. Safranin dituangkan pada preparat, kemudian ditunggu selama 30 detik sampai 1 menit. Preparat dibilas dengan air mengalir, kemudian dikeringkan. Pengamatan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali, 400 kali, hingga 1000 kali (Lay, 1994).

### **Analisi Data**

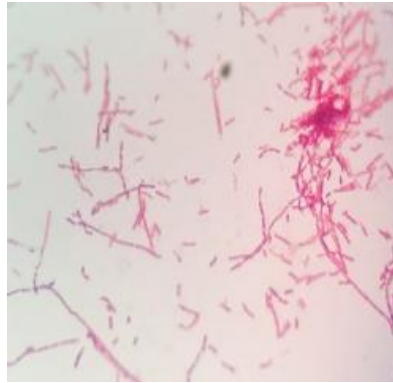
Data hasil penelitian disajikan secara deskriptif dengan menyajikan hasil pewarnaan bakteri yang tumbuh pada media agar madu liar Sumbawa yang akan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

### **Hasil dan Pembahasan**

Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari sampai diperoleh hasil dengan memperhatikan keadaan madu yang sudah dimasukkan ke dalam botol air mineral oleh pencari madu.

**Tabel 1.** Sampel Madu dari Sumbawa

<b>Sampel</b>	<b>Asal Sampel</b>	<b>Hasil Pemeriksaan</b>
1	Alas (Marente)	+
2	Alas (Desa Luar)	+
3	Alas Barat (Mapin Rea)	+
4	Buer (Pernang)	+
5	Lopok (Langam)	+
6	Lape	+
7	Lape (Hijarah)	+
8	Lape (Aimual)	+
9	Sumbawa (Lempeh)	+
10	Sumbawa (Brang Biji)	+



**Gambar 1.** Hasil pewarnaan gram

Berdasarkan hasil uji laboratorium ini dan pewarnaan gram di dapatkan bahwa bakteri pada sampel madu yang diambil dari 10 desa yang berbeda yang ada di Sumbawa adalah bakteri gram positif dengan ciri batang Panjang berderet kecil berwarna ungu merupakan ciri dari bakteri gram positif yang terdapat pada madu Sumbawa.

Bakteri gram positif ditandai dengan sel berwarna ungu. adanya perbedaan-perbedaan warna tersebut dikarenakan komponen penyusun dinding sel bakteri gram negatif dan bakteri gram positif berbeda. Bakteri gram positif dapat mempertahankan zat utama yang berisi kristal violet karena dinding selnya mempunyai kandungan peptidoglikan yang tebal. Bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan zat utama karena pada dinding selnya terdapat lapisan lipoprotein yang akan larut ketika dicuci dengan etanol (gram c) (Pelczar dan Chan 2000).

Madu mengandung sedikit air dan kurang mendukung pertumbuhan bakteri dan jamur. Beberapa spesies bakteri dapat tumbuh pada medium dengan aktivitas air antara 0,94-0,99, sedangkan nilai aktivitas air madu sekitar 0,56-0,62. pH madu.

Nilai pH madu rata-rata sekitar 3,2-4,5, sehingga dapat menghambat beberapa patogen yang mempunyai pH minimum pertumbuhan sekitar 7,2-7,4, seperti *Escherichia coli*, *Aeruginosa*, dan *Streptococcus pyogenes* (Bogdanov S, 2011).

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan dari 10 sampel madu liar Sumbawa yang diambil dari desa yang berbeda semua sampel positif terdapat bakteri gram positif.

### **Ucapan Terima Kasih**

Terima kasih pada Kepala Laboratorium Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi (BLKPK) telah mengizinkan melakukan pemeriksaan.

### **Daftar Pustaka**

- Adji, D. 2007. *Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70%, Inframerah, Otoklaf dan Ozon Terhadap Pertumbuhan Bakteri (Bacillus subtilis)*. *Jurnal Sa besar panjangin Vet*, 25(1).
- Administrator Sumbawa News. 2008. *Madu Hutan Sumbawa*. [diakses melalui <http://sumbawanews.com/berita/bisnis/maduhutanSumbawa.html> pada 15 Agustus 2021].
- Agung. 2009. *Model-model Pembelajaran Inkuiri*. [diakses melalui <http://www.agungprudent.wordpress.com> pada 15 Agustus 2021].
- Aldape M J, Bryant A E and Stevens D L. 2006. *Clostridium sordellii infection: epidemiology, clinical findings, and current perspectives on diagnosis and treatment*. *Clin Infect Dis.*, 43: 1436-1446.

- Arisman. 2008. *Keracunan Makanan: Buku Ajar Ilmu Gizi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.634.
- Armon, K., Stephenson, T., Gabriel, V., Macfaul, R., Eccleston, P., Werneke, U., dan Smith, P. 2001. Determining the common medical presenting problems to an accident and emergency department. *Archives of Disease in Childhood*, 84, 390-392.
- Arnon SS, Damus K, Chin J. 1979. Botulisme bayi: epidemiologi dan kaitannya dengan sindrom kematian bayi mendadak. *Epidemiol Rev.*; 3:45-66.
- Arnon SS, Midura TF, Damus K, Thompson B, Wood RM, Chin J. 1979. *Madu dan faktor risiko lingkungan lainnya untuk bayi batulisme*. *J Pediatr* 94:331-6.
- Aureli P, Ferrini AM. *Identifikasi spora Clostridium. Butolimun di kasus kematian bayi mendadak di Italia: diskripsi Klinis kasus*. *Minerva pediatar* 1998; 40: 125-6.
- Bogdanov S, 2011, *The Honey Book: Honey Composition, Bee Product Science*, [www.beehexagon.net](http://www.beehexagon.net)
- Babarinde, G.O., Babarinde, S.A., Adegbola, D.C. dan Ajayeoba, S.I. 2011. *Effect of harvesting methods on physicochemical and microbial quality of honey*. *Journal of Food Science and Technology* 48(5): 628–634.
- Adam MR. 2005. *Food Microbiology*. Ed II. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. Hal: 200-211.
- Benech, A. 2004. Honey: Functional Sweetness for Wellness Food. *Wellness Food Europe*. Available at: <http://www.harnisch.com/wfe/ausg/pdf/honey.pdf>. [Diakses tanggal 22 November 2007].
- Bergey`s DH. 1994. *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology*, 9<sup>th</sup> ed., Baltimore: Williams dan Wilkins.
- Buba, Fatimah, Gidado, A. dan Shugaba, A. 2013. Analysis of biochemical composition of honey sampel from NorthEast Nigeria. *Journal of Biochemistry and Analytical Biochemistry* 2(3): 1–7.
- Brooks, G. F, Butel, J. S and S. A Morse. *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*. Edisi 20. The McGraw-Hill Companies, inc. United States. 2008;hlm. 528
- Chauhan A, Pandey V, Chacko KM, Khandal RK, 2010, *Antibacterial Activity of Raw and Processed Honey*, *Electronic Journal of Biology* 5(3): 58-66.
- Daulay, D . 2012 . *Manajemen. Lembaga Penelitian dan Penulisan Ilmiah Aqli*. Medan.
- Dewi, M., Kartasasmita., R.E., dan Wibowo M.S. 2017. Uji efektivitas antibakteri beberapa madu asli lebah asal Indonesia terhadap *staphylococcus aureus* dan *escheria coli*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5 (1), 27-30.
- Ekoe, Jean M., P. Zimmet, dan R. Williams. 2008. *The Epidemiologi of diabetes militus*. Hoboken : Jhon Wiley & Sons Ltd.
- Hadioetomo dan Ratna. 1990. *Mikrobiologi Dalam Praktek*. Jakarta: PT Gramedia.
- Handoko, C. 2006. *Teknologi Peningkatan Kualitas Madu di NTB. Laporan Penelitian Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Bali dan Nusa Tenggara*. Kupang.
- Hani, Handoko, 2006 “*Manajemen Personalialia dan Sumber Daya Manusia*”, *Badan Penerbit Fakultas Ekonomi, edisi kedua, Yogyakarta*.
- Hatheway C L. 1990. *Toxigenic clostridia*. *Clin Microbiol Rev.*,3: 66-98.
- Holt JC, Bergey DH. 1994 .*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed., Baltimore: Williams dan Wilkins*.
- Juuti, K. 2004. Surface protein pls of methicilillin-resistant

- Staphylococcus aureus* role in adhesion, invasion and pathogenesis, and evolutionary aspects. Helinski: Depatrmn of Biological and Envinronmental Sciences Faculty of Biosciences. P. 61-63.
- Jawet, Melnick dan Adelberg's. 1996. Mikrobiologi kedokteran. Salemba Medica, Jakarta.
- Lay, W Bibiana. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Midura TF, Arnon SS. 1976. Infant botulism. Identification of Clostridium botulinum and its toxins in faeces. *The Lancet*. Vol. 308. Pg 934-936.
- Miraglio, A. M. 2002. Honey Health and Therapeutic Qualities. National Honey Board.<http://www.biologiq.nl/UserFiles/Compendium%20Honey%202002.pdf> honey health. [Diakses tanggal 22 November 2007].
- Mullai, V.,and T. Menon . 2005. Antibacterial Activity of Honey Against Pseudomonas aeruginosa. Department of Microbiology. Indian J Pharmacol. Vol. 37. P. 403.
- Mulu, A., B. Tessema and F. Derbie. 2004. In vitro Assesment of the antimicrobial potential of honey on common human patogens. *Ethiop J Health Dev*.18(2):107-11.
- Nayik, G.A. dan Nanda, V. 2015 . *Physico-chemical, enzymatic, mineral and colour characterization of three different varieties of honey from khasmir valley of India with a multivariate approach. Polish Journal of Food and Nutritions Sciences* 65(2): 101–108
- Nugraha et al. 2014. Aktivitas Antibakteri Madu Pahit Terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif Serta Potensinya Dibandingkan Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Oksitetrasiklin dan Gentamisin.
- Pelczar, M. J.; E. C. S. Chan: Elements of Microbiology, Dasar-dasar Mikrobiologi, (diterjemahkan oleh: Ratna Siri Hadioetomo, Teja Imas, S.Sutarmi Tjotroso, dan Sri Lestari Angka), UI-Press, Jakarta 2000
- R.Kieth, et al. 2008. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg, Ed 23. Translation of Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology, 23th Ed. Alih Bahasa Oleh Hartanto, H., et al. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Rostinawati T., 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella ( *Hibiscus Sabdariffa L* ) Terhadap *Escherchia Coli*, *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agara. Fakultas Farmasi, Universitas Pajajaran, Jatinangor.
- Saxena, S., Gautam, S. dan Sharma, A. 2010. *Physical biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. Food Chemistry* 118(2): 391–397..
- Sime, D., Atlabachew, M., Abshiro, M. R., and Zewde, T., 2015. *Total Phenols and Antioxidant Activities of Natural Honeys and Propolis Collected from Different Geographical Regions of Ethiopia. Bull Chem Soc Ethiop*. 29 (2): 163-172.
- Smith, L.D.S. dan H. Sugiyama. 1988. Botulism. The organism, its toxins, the disease. *Charles C. Thomas (ed). Springfield*. III. USA. 171 p.
- Solomon HM, Lilly T. 2001. *Clostridium botulinum*. Manual Analitik Bakteriologi, FDA, USA: Bab 17.
- Stropler, M.C., 2008, Stap Infection (Staphylococcus aureus). Universitas sarbone, Prancis.
- Salmenlina, S. 2002. Molecular epidemiologyof methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in finland. Helsinki: the Nasional Public Health Insitute. P 88-92.

- Supardi dan Sukanto. 1999. Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Produk Pangan. Alimni, Bandung.
- Taormina, P.J., B.A. Niemira, Larry R. Beuchat, 2001. Inhibitory Activity of Honey Against Foodborne Pathogens as Influenced by The Presence of Hydrogen Peroxide and Level of Antioxidant Power. *International Journal of Food Microbiology* 69 (2001) 217-225
- Tolan, R.W.2008. Staphylococcus aureus infection. Available at:<http://www.emedicine.com/ped/topic2704.htm> [Diakses 3 Februari 2008]
- Twine S M, Reid C W, Aubry A, McMullin D R, Fulton K M, Austin J and Logan S M. 2009. *Motility and flagellar glycosylation in Clostridium difficile*. *J Bacteriol.*, 191: 7050-7062.
- Todar, K. 2005. Todar's online Textbook of Bacteriology. *Staphylococcus*. University of Wisconsin-Madison. Department of Bacterology., Diakses:08 Mei 2012
- Weiner A, *et al.* 2010 *High-resolution nucleosome mapping reveals transcription-dependent promoter packaging*. *Genome Res* 20(1):90-100.
- Winn. Analisis Protein Pili Salmonella typhi isolate RS. Kariadi Semarang dengan Elektroforesis SDS-PAGE. *Jurnal Litbang Universitas Muhammadiyah Semarang*. 2006; hlm. 1-4