

Analisis Fisikokimia dan Aktivitas Antibakteri Madu Hutan Timor terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

*(Physicochemical Analysis and Antibacterial Activity of Timor Forest
Honey against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus)*

Fajar Okta Undari^{1*}, Hadri Latif², Mirnawati Bachrum Sudarwanto²

¹Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

²Divisi Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Epidemiologi,
Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

*Korespondensi Email : undari_64ever@yahoo.com

ABSTRACT

The emergence of antibiotic-resistant bacteria has become a global concern. One of the bacteria that is resistant to several types of antibiotics is Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Honey is known for its nutritional and antibacterial properties. The antibacterial activity of honey is due to several factors such as its physicochemical properties, H₂O₂, and phytochemicals compounds. Honey could be a promising alternative to overcome the problem of antibiotic resistance. The aim of this research was to determine the physicochemical, H₂O₂, Pinocembrin, Kaempferol and antimicrobial activity of Timor Forest honey. A total of 7 Timor Forest honey was analyzed to determine water content, water activity, pH, H₂O₂, Pinocembrin, Kaempferol and antibacterial activity. Moisture content, water activity, and pH were measured using a refractometer, aw-meter, and pH meter, respectively. Hydrogen peroxide content was measured using peroxide strip test. Pinocembrin and Kaempferol contents were measured using HPLC-DAD. The analysis showed that the water content, water activity and pH of Timor Forest honey were 17.52±3.31%, 0.6±0.01, 4.18±0.32, respectively. The content of H₂O₂, Pinocembrin, and Kaempferol were 109.1±47.1 µmol/L, 2.2±1.9 mg/100 g, 1.7±0.7 mg/100 g, respectively. The antibacterial activity of Timor Forest honey against MRSA was tested using Kirby-Bauer disc diffusion method. Vancomycin was used as positive control. The inhibition zone of Timor Forest honey and vancomycin was not significantly different with an average of 13.93±0.23 mm for Timor Forest honey and 14.33±0.05 mm for vancomycin. Timor forest honey has good physicochemical properties with a relatively high content of Pinocembrin and Kaempferol and has antibacterial activity against MRSA.

Keywords : antibacterial; MRSA; physicochemical; phytochemical; Timor forest honey

PENDAHULUAN

Kemunculan bakteri yang resisten terhadap antibiotik telah menjadi perhatian dunia. Salah satu

bakteri yang telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotika adalah *Methicillin-Resistant*

Staphylococcus aureus (MRSA). MRSA muncul sebagai *superbug* dan sering menyebabkan infeksi nosokomial pada pasien rawat inap (Bereket *et al.* 2012). Di sisi lain, industri farmasi masih belum berhasil mengembangkan antibiotik baru untuk memerangi masalah resistensi antibiotik.

Madu bisa menjadi alternatif yang menjanjikan untuk mengatasi situasi tersebut karena memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif (Rani *et al.* 2017). Aktivitas antimikroba madu dikaitkan dengan sifat fisikokimia, hidrogen peroksida, dan senyawa fitokimia yang terkandung dalam madu. Sifat fisikokimia yang mempengaruhi kemampuan antibakteri madu adalah tekanan osmosis yang tinggi dan pH yang rendah. Tekanan osmosis madu yang tinggi, disebabkan oleh kadar air dan aktivitas air yang rendah serta kandungan gula yang tinggi. Hidrogen peroksida diidentifikasi sebagai senyawa antibakteri utama dalam madu sejak tahun 1960-an (White and Subers 1963). Selain H₂O₂, senyawa fitokimia seperti flavonoid juga terkandung dalam madu. Pinocembrin dan

Kaempferol merupakan senyawa flavonoid yang ditemukan dalam madu serta dikenal karena kemampuannya sebagai antiinflamasi, antioksidan, antikarsinogenik, dan antimikroba (Cheung *et al.* 2019). Semua faktor tersebut bekerja secara sinergis sebagai antibakteri pada madu (Molan 1992).

Salah satu madu hutan asli Indonesia adalah madu hutan Timor yang berasal dari wilayah Indonesia bagian timur, tepatnya di Nusa Tenggara Timur (NTT). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu hutan Timor tetapi masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis sifat fisikokimia, kandungan H₂O₂, dan senyawa fitokimia dalam madu hutan Timor serta menguji aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap MRSA. Hasil penelitian ini diharapkan bisa memberikan informasi terkait sifat fisikokimia, kandungan H₂O₂, senyawa fitokimia serta aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap MRSA. Informasi tersebut diharapkan bisa digunakan sebagai acuan dalam pengembangan serta pemanfaatan madu hutan Timor.

MATERI DAN METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan

pada bulan Juni-Desember 2022. Sampel berupa madu hutan asal Pulau Timor yang dipanen pada bulan September 2022 di kawasan

hutan tropis Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Masing-masing sampel diambil dari 7 koloni yang berbeda. Isolat *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA ATCC strain No. 43300) diperoleh dari BPMSPH. Penelitian ini terdiri dari 3 tahapan yaitu 1) tahap pengujian fisikokimia madu, 2) tahap pengujian senyawa hidrogen peroksida dan senyawa flavonoid (Pinocembrin dan Kaempferol) dan 3) tahap pengujian aktivitas antibakteri madu terhadap MRSA.

Pengujian kadar air madu dilakukan di Balai Pengawas Obat dan Makanan Kupang sedangkan pengujian aktivitas air dan pH dilakukan di Laboratorium Pengawasan Mutu Pangan Politeknik Pertanian Negeri Kupang. Analisis kadar hidrogen peroksida dan senyawa flavonoid (Pinocembrin dan Kaempferol) dilakukan di Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan (BPMSPH) Bogor. Pengujian aktifitas antibakteri madu terhadap MRSA dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner (Kesmavet) Divisi Kesmavet dan Epidemiologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah madu hutan asal Pulau Timor, metanol, asetonitril, standar Pinocembrin dan Kaempferol,

phosphate buffer, etanol, isolat *methicillin-resistant*

Staphylococcus aureus (MRSA ATCC strain No. 43300), *nutrient agar*, *nutrient broth*, air deionisasi LiChrosolv® (Merck, Jerman), MQuant™ peroxide test strips (Merck, Jerman), cakram Vankomisin (30µg), cakram kosong (diameter 6 mm).

Alat yang digunakan adalah *shaker*, *centrifuge*, *rotary evaporator*, *High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection* (HPLC-DAD), ose, inkubator, jangka sorong, autoklaf, refraktometer, a_w -meter, neraca analitik, pH-meter dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

Pemanenan Madu

Pemanen mengasapi kedua sisi sarang lebah sampai lebah meninggalkan sarangnya. Sarang lebah dipotong, kemudian dimasukkan kedalam ember plastik. Lapisan lilin yang ada pada sarang lebah dikikis dengan menggunakan pisau, selanjutnya madu dikeluarkan dari sarang dengan cara ditiriskan. Madu tersebut kemudian disaring menggunakan saringan plastik dan dimasukkan kedalam botol kaca (BSN 2018). Botol kaca yang berisi madu, dibungkus dengan *bubble wrap* berwarna hitam dan disimpan di tempat yang gelap pada suhu ruangan (Molan 1992).

Pengujian Sifat Fisik Madu

Metode pengujian kadar air madu mengacu pada SNI 8664:2018 dengan menggunakan refraktometer (BSN 2018). Pengujian aktivitas air dilakukan dengan menggunakan a_w -meter mengacu pada (Chirife *et al.* 2006). Pengujian aktivitas air madu dilakukan dengan cara menyiapkan sampel sebanyak 50 mL dan diukur sampai alat menunjukkan pengukuran yang stabil, kemudian nilai yang terukur dicatat.

Pengukuran pH Madu

Pengukuran pH madu mengacu pada metode yang digunakan oleh Bogdanov (2009). Sebanyak 10 g madu ditimbang dalam beaker glass 100 mL menggunakan neraca analitik. Selanjutnya sampel madu tersebut dihomogenkan dalam 75 mL air suling. Setelah itu, menggunakan pH-meter yang sudah dikalibrasi dengan buffer yang sesuai (larutan pH 7,0 dan larutan pH 4,0) untuk setiap sampel madu. Nilai yang terukur pada pH-meter selanjutnya dicatat.

Ekstraksi dan Karakterisasi Senyawa Pinocembrin dan Kaempferol

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi fase padat yang dilakukan dalam kolom kaca dengan ukuran pori 100-160 μm . Kolom dengan diameter 2 cm diisi dengan 30 g resin Amberlite XAD-2. Resin disiapkan sesuai dengan rekomendasi dari suplier. Gula dihilangkan dengan larutan

asam hidroklorida dan pencucian air. Polifenol diserap dengan metanol, kemudian dikeringkan pada suhu 40°C. Selanjutnya dilakukan penguapan dalam dua tahap karena fraksi ini masih mengandung sisa air. Tahap pertama pada 190 lembar dan tahap kedua pada 50 lembar. Residu yang dihasilkan (2-3 mL) dibuat hingga 5 mL dengan campuran air dan methanol (20:80 v/v). Residu yang telah diencerkan ini kemudian diinjeksikan ke dalam kolom HPLC-DAD (*High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector*) dengan *flow rate* 0,5 mL/menit, *wavelength* 280 nm dan fase gerak yang digunakan adalah air kromatografi untuk HPLC dan acetonitrile (20:80). Standar yang digunakan adalah Pinocembrin dan Kaempferol yang diperoleh dari Sigma-Aldrich (Istasse *et al.* 2016).

Kuantifikasi Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Pengukuran konsentrasi H_2O_2 dilakukan dengan metode semi kuantitatif menggunakan MQuant™ *peroxide test strips* (Merck, Jerman) dan mengacu pada Kerkvliet (1996). Madu dilarutkan dengan air deionisasi LiChrosolv® (Merck, Jerman) dengan perbandingan 1:10, kemudian dicampur dengan menggunakan *shaker* selama 1-3 menit. Setelah diinkubasi selama 1 jam pada suhu 15-30 °C, strip dicelupkan kedalam larutan madu selama 1 detik dan dipindahkan ke tempat yang kering.

Perubahan warna yang terjadi diamati setelah 15 detik, kemudian dicocokkan dengan skala warna. Hasil yang diperoleh adalah konsentrasi H_2O_2 dalam mg/L.

Uji Aktivitas Antibakteri Madu terhadap MRSA

Uji aktivitas antibakteri dilakukan berdasarkan prinsip kerja metode Kirby-Bauer (CLSI 2020) dengan menggunakan suspensi bakteri yang setara dengan McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Persiapan madu dilakukan dengan mengambil 10 mL madu dengan menggunakan syringe filter 0,45 mikron diameter 25 mm dan ditampung dalam tabung Eppendorf steril 15 mL. Cakram kosong steril dengan diameter 6 mm dijenuhkan dengan madu sebanyak 1 mL, kemudian dibiarkan selama 12-24 jam agar madu bisa terserap sempurna. Tiriskan terlebih dahulu sebelum digunakan (Allen *et al.* 1991).

Pengujian daya hambat madu terhadap MRSA dilakukan

dengan cara mencampurkan 1 mL suspensi bakteri yang setara dengan McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) dengan 25 mL MHA, dan biarkan mengeras pada suhu ruangan. Cakram madu, cakram Vankomisin (30 μ g), dan cakram kosong (kontrol negatif) diletakkan pada MHA dengan menggunakan pinset steril. Jarak antar cakram adalah 2 cm. Selanjutnya MHA diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 16-18 jam. Amati ada tidaknya zona bening yang terbentuk dan ukur dengan jangka sorong jika terbentuk zona bening dalam milimeter (CLSI 2020).

Analisis Data

Data terkait sifat fisikokimia dan senyawa flavonoid dianalisis secara deskriptif. Sedangkan data terkait daya hambat madu hutan Timor terhadap MRSA dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Fisikokimia Madu Hutan Timor

Sifat fisikokimia madu hutan Timor yang dianalisis adalah kadar air, aktivitas air dan pH. Hasil analisis sifat fisikokimia madu hutan Timor disajikan pada Tabel 1. Rata-rata kadar air madu hutan Timor adalah $17,52 \pm 3,31\%$. Syarat kadar air madu hutan menurut SNI

8664:2018 adalah dibawah 22% (BSN 2018) dan Codex Alimentarius Commission Standards (2001) mensyaratkan kadar air madu tidak boleh lebih dari 20%. Rata-rata kadar air madu hutan Timor telah memenuhi syarat kedua standar tersebut. Kadar air madu merupakan faktor penting untuk menentukan kualitas madu, karena

kadar air yang tinggi dapat menyebabkan fermentasi yang tidak diinginkan selama penyimpanan, sehingga menimbulkan rasa asam pada madu dan mempengaruhi aroma madu (Snowdon and Cliver 1996).

Kisaran kadar air madu hutan di Indonesia cukup tinggi, yaitu 22-32% (Pribadi dan Wiratmoko 2019; Adalina *et al.* 2024; Nuriman *et al.* 2021). Kadar air madu bisa sangat bervariasi meskipun dihasilkan oleh jenis lebah yang sama. Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar air madu adalah sumber nektar, kondisi lingkungan fisik (suhu dan kelembapan), iklim, musim, dan tingkat kematangan madu (De Sousa *et al.* 2016). Madu hutan Timor dalam penelitian ini diperoleh dari kawasan hutan tropis di Kabupaten Timur Tengah Utara yang memiliki durasi musim hujan yang singkat dan musim

kemarau yang cukup panjang. Suhu tertinggi selama bulan September adalah 30,2 °C dan suhu terendah adalah 24 °C dengan kelembapan rata-rata 64%. Kondisi tersebut menjadi salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar air madu hutan Timor. Selain iklim, kebiasaan masyarakat di Pulau Timor yang memanen madu secara besar-besaran hanya dua kali dalam setahun juga berpengaruh pada kadar air madu hutan Timor. Madu hutan Timor biasanya akan dipanen pada bulan Juli dan September dan hanya sarang madu yang sudah benar-benar matang saja yang akan dipanen. Madu yang matang adalah madu yang telah tertutup oleh lilin. Kadar air madu hutan Timor yang rendah menunjukkan bahwa madu hutan Timor memiliki kualitas yang baik karena tidak mudah rusak akibat proses fermentasi sehingga bisa disimpan dalam jangka waktu lama.

Tabel 1. Hasil analisis sifat fisikokimia madu hutan Timor

No	Parameter	n	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Mean±SD
1	Kadar air (%)	7	13,58	21,57	17,52±3,31
2	Aktivitas air	7	0,59	0,62	0,6±0,01
3	pH	7	4,18	4,66	4,18±0,32

n = jumlah sampel madu hutan Timor

Rata-rata aktivitas air madu hutan Timor pada penelitian ini adalah 0,6±0,01. Aktivitas air madu berkisar antara 0,562-0,62, sehingga tidak memungkinkan adanya pertumbuhan bakteri (Molan 1992). Belum ada standar

aktivitas air madu baik di SNI maupun Codex Alimentarius Commission Standards. Interaksi yang kuat antara gula dengan molekul air mencegah terbentuknya air bebas yang berlebihan, yang bisa digunakan

oleh mikroorganisme untuk tumbuh. Informasi terkait aktivitas air madu diperlukan untuk memprediksi pertukaran air dengan lingkungan, karena aktivitas air merupakan kekuatan pendorong di balik perpindahan air dari dan ke madu (Chirife *et al.* 2006). Faktor yang mempengaruhi aktivitas air madu adalah jenis bunga, bentuk madu (cair atau sudah mengkristal), iklim dan *botanical origin* (Chen 2019).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa rata-rata pH madu hutan Timor adalah $4,18 \pm 0,32$. Madu bersifat asam dengan pH rata-rata 3,91, dan berkisar antara 3,4 dan 6,1 (White *and* Subers 1963). Keasaman menjadi faktor penting dalam aktivitas antibakteri madu, karena sebagian besar bakteri tumbuh pada kisaran pH 6,5-7,5 (Cavia *et al.* 2004). Keasaman madu disebabkan oleh adanya asam organik dalam madu, terutama asam glukonat yang merupakan hasil pemecahan glukosa secara enzimatis oleh glukosa oksidase. Enzim tersebut

disekresikan lebih dari kelenjar hipofaring (White *and* Subers 1963).

Senyawa Hidrogen Peroksida dan Senyawa Fitokimia Madu Hutan Timor

Senyawa yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi senyawa H_2O_2 , Pinocembrin, dan Kaempferol. Hasil analisis ketiga senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Rata-rata konsentrasi H_2O_2 pada madu hutan Timor adalah $109,1 \pm 47,1$ $\mu\text{mol/L}$ dengan rentang 58,7-146,9 $\mu\text{mol/L}$. Besarnya variasi kandungan H_2O_2 pada madu juga dilaporkan oleh Strelec *et al.* (2018). Penelitian terhadap madu Kroasia dengan perbedaan *botanical origin* dan perbedaan pengenceran menunjukkan bahwa madu-madu tersebut memiliki kadar H_2O_2 yang bervariasi antara 0-294,1 $\mu\text{mol/L}$ (Strelec *et al.* 2018). Faktor yang mempengaruhi kadar H_2O_2 adalah tingkat pengenceran, sedangkan *botanical origin* tidak berpengaruh terhadap kadar H_2O_2 dalam madu tersebut.

Tabel 2. Hasil analisis senyawa hidrogen peroksida dan senyawa fitokimia pada madu hutan Timor

No	Parameter	n	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Mean $\pm$ SD
1	H_2O_2 ($\mu\text{mol/L}$)	7	58,7	146,9	$109,1 \pm 47,1$
2	Pinocembrin (mg/100 g)	7	0,4	6,1	$2,2 \pm 1,9$
3	Kaempferol (mg/100 g)	7	0,9	3	$1,7 \pm 0,7$

n = jumlah sampel madu hutan Timor

Beberapa peneliti menyampaikan bahwa kadar H_2O_2 dalam madu juga ditentukan oleh

kandungan katalase, antioksidan (asam askorbat) dan beberapa komponen lain yang bekerja seperti

antioksidan (White and Subers 1963; Kwakman and Zaat 2012; Kerkvliet 1996). Komponen-komponen tersebut mampu melakukan dekomposisi H_2O_2 , sehingga bisa menurunkan kadar H_2O_2 dalam madu.

Komposisi flavonoid dipengaruhi oleh letak geografis, sedangkan jenis bunga atau sumber nektar berpengaruh pada konsentrasi flavonoid dalam madu (Cheung *et al.* 2019). Rata-rata kandungan Pinocembrin dalam madu hutan Timor pada penelitian ini adalah $2,2 \pm 1,9$ mg/100 g. Data terkait kadar Pinocembrin dalam madu di Indonesia belum tersedia, namun dari penelitian yang dilakukan oleh Misiak *et al.* (2017) dan Bogdanov (2015) diketahui rata-rata kadar Pinocembrin madu Belgia dan madu Swiss berturut-turut adalah 1,60 mg/100 g dan 0,2-0,3 mg/100 g. Newman *et al.* (2000) menyampaikan bahwa Pinocembrin merupakan flavonoid utama yang diisolasi dari berbagai jenis tanaman, khususnya pinus, kayu putih, selamang (hawar), *Euphorbia*, dan *Sparattosperma leucanthum*.

Rata-rata konsentrasi Kaempferol pada madu hutan Timor adalah $1,7 \pm 0,7$ mg/100 g. Berdasarkan database *United States Department of Agriculture* tahun 2011, kadar Kaempferol dalam madu adalah 0,06 mg/100 g (sampel berasal dari beberapa jenis madu yang berasal dari Argentina,

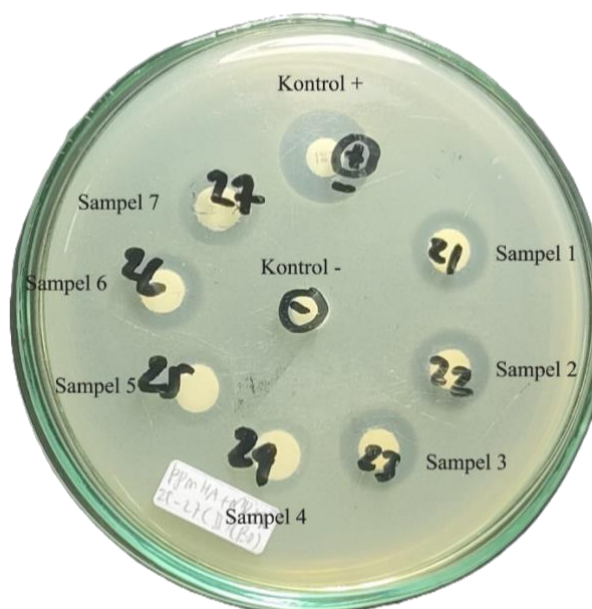
Australia, Italia, Portugal, dan Spanyol). Kaempferol merupakan flavonoid yang ditemukan pada berbagai jenis tanaman, rempah-rempah, dan produk lebah seperti madu dan propolis. Madu yang dilaporkan memiliki kandungan Kaempferol adalah madu kayu putih, madu Italia, madu Argentina, madu Portugal, madu *Leptospermum* asal New Zealand dan Australia, madu Tunisia, madu linden asal Jerman, madu lemon asal Spanyol, madu bunga heather, dan madu Australia yang berasal dari berbagai jenis tanaman (USDA 2011; Cheung *et al.* 2019). Kadar Kaempferol pada madu hutan Timor jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar Kaempferol yang terdapat pada database USDA tersebut.

Letak geografis dan sumber nektar merupakan faktor penentu kandungan Pinocembrin dan Kaempferol dalam madu, tidak terkecuali pada madu hutan Timor. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, beberapa tanaman yang ada di sekitar tempat pengambilan sampel adalah cendana, kayu putih, vanili, asam, kesambi, mangga, melinjo, lontar dan bunga hutan. Semua tanaman tersebut bisa menjadi sumber nektar bagi lebah yang ada di kawasan hutan tempat pengambilan sampel, akan tetapi perlu dilakukan analisis polen untuk mengetahui jenis tanaman yang dominan sebagai sumber makanan lebah.

Daya Hambat Madu Hutan Timor Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri madu hutan Timor

terhadap MRSA dapat dilihat pada Gambar 1. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap MRSA.



Gambar 1. Zona hambat pada uji aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap MRSA

Berdasarkan uji statistik, diketahui bahwa daya hambat madu hutan Timor dan Vankomisin terhadap MRSA tidak berbeda nyata dengan rata-rata diameter zona hambat $13,93 \pm 0,23$ mm untuk madu hutan Timor dan $14,33 \pm 0,05$ mm untuk Vankomisin. Zona hambat tidak terbentuk pada kontrol negatif (Tabel 3). Aktivitas

antibakteri tersebut dikaitkan dengan sifat fisikokimia dan senyawa fitokimia dalam madu. Faktor antibakteri madu seperti viskositas, pH, hidrogen peroksida, dan senyawa non peroksida lainnya bekerja secara tunggal maupun sinergis untuk melawan bakteri (Kwakman and Zaat 2012).

Tabel 3. Diameter zona hambat madu hutan Timor terhadap MRSA

Kelompok	Mean (mm)	Standar Deviasi	p-value
Kontrol negatif	0	0	N/A
Kontrol positif	14,33	0,05	0,09 ^a
Madu hutan Timor	13,93	0,23	

a. t test_equal variances not assumed

Beberapa penelitian terkait aktivitas antibakteri madu terhadap MRSA juga telah dilakukan di Indonesia. Daya hambat madu Seulawah tanpa pengenceran terhadap MRSA adalah 11,91 mm (Ramadhan *et al.* 2022), dan daya hambat madu kelapa sawit tanpa pengenceran adalah 11,7 mm (Panjaitan *et al.* 2018). Kemampuan

antibakteri madu melawan MRSA sangat bervariasi karena sifat dan kandungan senyawa antibakteri dalam setiap madu juga berbeda-beda, tergantung pada letak geografis dimana madu itu berasal, musim, *botanical origin*, proses pemanenan, pengolahan dan penyimpanan madu (Olaitan *et al.* 2007).

SIMPULAN

Kadar air madu hutan Timor telah memenuhi syarat SNI, yaitu sebesar $17.52 \pm 3.31\%$. Nilai aktivitas air dan pH madu hutan Timor berturut-turut adalah 0.6 ± 0.01 dan 4.18 ± 0.32 . Hidrogen peroksida ditemukan dalam jumlah kecil pada madu hutan Timor, yaitu sebesar $109.1 \pm 47.1 \mu\text{mol/L}$. Kandungan

Pinocembrin dan Kaempferol pada madu hutan Timor, relatif tinggi yaitu sebesar $2.2 \pm 1.9 \text{ mg/100 g}$ dan $1.7 \pm 0.7 \text{ mg/100 g}$. Madu hutan Timor terbukti menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap MRSA, dengan diameter zona hambat sebesar $13.93 \pm 0.23 \text{ mm}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Adalina Y, Mulyati AH, Oktasari D, Prayoga P. 2024. Physico-chemical properties of multifloral honey *Apis dorsata* and monofloral honey of bees *Apis mellifera*. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci. 1315. doi: 10.1088/1755-1315/1315/1/012065.
- Afifurrahman, Samadin KH, Aziz S. 2014. Pola kepekaan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik Vankomisin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. MKS. 46(4).
- Allen KL, Molan PC, Reid GM. 1991. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. J Pharm Pharmacol. 43(12):817–822. doi: 10.1111/j. 2042-7158.1991.tb03186.x.
- Bereket W, Hemolatha K, Getenet B, Wondwossen T, Solomon A, Zeynudin A, Kannan S. 2012. Update on bacterial nosocomial infections. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 16(9):1039–1044.
- Bogdanov S. 2009. Harmonized methods of the international honey commission. <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>.
- Bogdanov S. 2015. Determination of Pinocembrin in honey using HPLC. J Apic Res. 28:55–57. <https://doi.org/10.1080/00218839.1989.11100821>.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional.

2018. Standar Nasional Indonesia (SNI) 8664:2018 madu. Jakarta (ID): BSN.
- Cavia MM, Fernández-Muiño MA, Huidobro JF, Sancho MT. 2004. Correlation between moisture and water activity of honeys harvested in different years. *J Food Sci.* 69:368–370. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10699.x>
- Chen C. 2019. Relationship between water activity and moisture content in floral honey. *Foods.* 8(30). doi:10.3390/foods8010030.
- Cheung Y, Meenu M, Yu X, Xu B. 2019. Phenolic acids and flavonoids profiles of commercial honey from different floral sources and geographic sources. *Int J Food Prop.* 22(1):290–308. doi: <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1579835>
- Chirife J, Zamora MC, Aldo M. 2006. The correlation between water activity and % moisture in honey : fundamental aspects and application to Argentine honeys. *J Food Eng.* 72(3). doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.12.009.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. M100 – Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Ed ke–30. West Valley: CLSI.
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 2022. Standard for honey. www.codexalimentarius.org.
- De Sousa JMB, De Souza EL, Marques G, Benassi MDT, Gullon B, Pintado MM, Magnani M. 2016. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. *LWT.* 65:645–651. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.058>.
- Huidobro JF, Santana FJ, Sanchez MP. 1995. Diastase, Invertase And B-Glucosidase Activities In Fresh Honey From North-West Spain. *J Apic Res.* 34(1). doi:10.1080/00218839.1995.11100884
- Istasse T, Jacquet N, Berchem T, Haubruge E, Nguyen BK, Richel A. 2016. Extraction of honey polyphenols: method development and evidence of cis isomerization. *Anal Chem Insights.* 2016:11 49–57. doi:10.4137/ACI.S39739.
- Kerkvliet JD. 1996. Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. *J Apic Res.* 35. doi: <https://doi.org/10.1080/00218839.1996.11100920>.
- Kwakman PHS, Zaat SAJ. 2012. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life.* 64(1):48–55. doi: 10.1002/iub.578.
- Li XM, Luo XG, Si CL, Wang N, Zhou H, He JF, Zhang TC. 2015. Antibacterial active compounds from *Hypericum ascyron* L. induce bacterial cell death through apoptosis pathway. *Eur J Med Chem.* 96:436–444.
- Liu MH, Otsuka N, Noyori K, Shiota S, Ogawa W, Kuroda T, Hatano T, Tsuchiya T. 2009. Synergistic effect of Kaempferol glycosides purified from *Laurus nobilis* and fluoroquinolones on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull.* 32(3):489–492.
- Misiak IJ, Gruyaert S, Poliwoda A, Kafarski P. 2017. Chemical profiling of polyfloral Belgian honey: ellagic acid and Pinocembrin as antioxidants and chemical marker. *J chem.* 2017(5393158). doi: <https://doi.org/10.1155/2017/>

- 5393158.
- Molan PC. 1992. The antibacterial activity of honey 1, the nature of the antibacterial activity. *Bee World*. 73: 5-28.
- Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat Prod Res*. 17(3):215-234. doi: 10.1039/a902202c.
- Nuriman, Saputri NA, Pathiassana MT, Gaibi N, Lestian, Septiani AD, Pathiussina RT. 2021. Analisis pengaruh suhu terhadap warna, densitas, dan viskositas madu hutan lebah *Apis dorsata* dari Kecamatan Lunyuk, Sumbawa. *J Pengolahan Pangan*. 8(1). doi: <https://doi.org/10.31970/pangan.v8i1.79>.
- Olaitan PB, Adeleke OE, Ola IO. 2007. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Afr Health Sci*. 7(3):59-165. doi:10.5555/afhs.2007.7.3.159.
- Panjaitan RA, Darmawati S, Prastiyanto ME. 2018. Aktivitas antibakteri madu terhadap bakteri multidrug resistant *Salmonella typhi* dan methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Seminar Nasional Edusaintek FMIPA UNIMUS 2018. <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn12012010/article/view/4240/3934>.
- Pribadi A, Wiratmoko ME. 2019. Karakteristik madu lebah hutan (*Apis dorsata*) dari berbagai bioregion di Riau. 37(3):185-200. doi: 10.20886/jphh.2019.37.3.185-200.
- Ramadhan R, Hasballah K, Suryawati S, Mulia VD. 2022. Daya Hambat Madu Seulawah terhadap methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Bioleuser*. 6(3):1-4. <https://jurnal.usk.ac.id/bioleuser/article/view/30484>.
- Rani GN, Budumuru R, Bandaru NR. 2017. Antimicrobial activity of honey with special reference to methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). *J Clin Diagn Res*. 11(8). doi: 10.7860/JCDR/2017/30085.10347.
- Salosso Y. 2019. The potential of honey (*Apis* spp.) from Timor Island as antibacterial against pathogenic bacteria in fish culture. *IAJ*. [diakses 2022 Mar 22];14(2):63-68. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/iaj>.
- Snowdon JA, Cliver DO. 1996. Microorganisms in honey. *Int J Food Microbiol*. 31: 1-26.
- Strelec I, Crevar B, Kovac T, Billi Rajs B, Primorac LJ, Flanjak I. 2018. Glucose oxidase activity and hydrogen peroxide accumulation in Croatian honeys. *Croat J Food Sci Technol*. 10(1):33-41. doi: <https://doi.org/10.17508/CJFST.2018.10.1.06>.
- [USDA] United State Departement of Agriculture. 2011. USDA Database for the flavonoid content of selected foods. <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>.
- White JW, Subers MH. 1963. Studies on honey inhibine 2 : a chemical assay. *J Apic Res*. 2(2):93-100.