

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah kesehatan dan penyebab kematian terbesar di dunia termasuk di Indonesia (Rahman *et al.*, 2023). Penyakit infeksi disebabkan masuk dan berkembang biaknya mikroba patogen yang terdiri bakteri, fungi, parasit dan virus. Antibiotik digunakan terus menerus untuk menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Novard *et al.*, 2019). Terjadinya resistensi antibiotik dikarenakan pemakaian antibiotik yang berlebihan. Bakteri yang resistensi antibiotik jika pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh antibiotik pada dosis maksimal (Putra *et al.*, 2019).

Data Kementerian Kesehatan (2019) menunjukkan insidensi penyakit infeksi masih tergolong tinggi seperti, tuberkulosis tercatat sebanyak 193,1 kasus, diare mencapai 1.571,9 kasus, dan pneumonia pada balita sebanyak 180,4 kasus. Sementara itu, pada tahun 2024, WHO juga melaporkan bahwa lebih dari 23% kematian pada balita disebabkan oleh penyakit infeksi, dengan diare dan pneumonia sebagai faktor utama. Tingginya jumlah kasus penyakit infeksi juga diikuti meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Saat ini, banyak bakteri patogen yang telah menjadi resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, yang dikenal sebagai bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*). Indonesia menempati peringkat ke-8 dari 27 negara dengan tingkat resistensi antibiotik tertinggi di dunia (WHO, 2024).

Resistensi antibiotik telah menjadi permasalahan di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Setiap tahun, sekitar 700.000 orang meninggal di seluruh dunia akibat resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik relatif tinggi di Indonesia dan terus meningkat. Upaya untuk mengendalikan produksi antimikroba belum mengimbangi peningkatan resistensi antibiotik. Oleh dari itu, diperlukan strategi baru untuk mengobati infeksi (Kaligis *et al.*, 2020).

Di berbagai negara pola penggunaan antibiotik tersebut telah mencapai tingkat yang berlebihan, banyak kasus penggunaan antibiotik tidak tepat. Resistensi bakteri terhadap berbagai antibiotik telah banyak dilaporkan. Sebagai contoh, *Staphylococcus*

*aureus* diketahui resisten terhadap penisilin, oksasilin, dan antibiotik beta-laktam. Mikroba Gram-negatif seperti *Escherichia coli* sudah banyak ditemukan resisten terhadap antibiotik beta-laktam (Hilda *et al.*, 2015). Bakteri *Escherichia coli* mampu menyebarkan gen resistensi terhadap antibiotik pada hewan maupun manusia (Safitri *et al.*, 2024).

Pengobatan infeksi akibat bakteri resisten antibiotik membutuhkan alternatif dari bahan alami, seperti obat tradisional, yang umumnya dianggap lebih aman dibandingkan obat modern. Salah satu bahan alami yang secara umum dapat diketahui memiliki banyak khasiat dan dengan keamanan yang relatif tinggi adalah madu. Berbagai jenis lebah dapat menghasilkan madu, termasuk lebah dari spesies *Trigona* sp. yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Ardenny., 2022). Madu sering dipilih dibandingkan tumbuhan lain karena menawarkan kombinasi unik antara rasa manis alami. Rasa manis madu alami tidak memiliki efek seperti gula pasir, karena manis dari madu dipengaruhi oleh karbohidrat sederhana yaitu monosakarida dan air yang dapat diserap oleh tubuh (Nanda *et al.*, 2014).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ma'rif *et al.* (2018) dan Nasri *et al.* (2023) madu *Trigona* sp. memiliki zona hambat lebih dari 20 mm dengan kategori sangat kuat, karena madu *Trigona* sp. memiliki sifat bakterisidal (membunuh) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Madu *Trigona* sp. memiliki sifat antimikroba yang lebih kuat dibanding madu dari genus *Apis* sp. karena kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid dan alkaloid. Senyawa-senyawa ini membuat madu *Trigona* efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif maupun Gram-positif. Penelitian yang dilakukan Ramadhani *et al.* (2022) menunjukkan madu memiliki aktivitas antibiotik spektrum luas yang efektif melawan bakteri patogen. Sifat hidroskopik madu juga memungkinkan madu menyerap air dari lingkungan bakteri, menyebabkan bakteri mengalami dehidrasi. Selain itu, madu bersifat imunomodulator dengan cara merangsang makrofag untuk memproduksi sitokin yang berperan dalam membunuh bakteri dan mempercepat bakteri dan mempercepat perbaikan jaringan.

Efektivitas antibakteri juga dipengaruhi oleh konsentrasi, Penelitian yang dilakukan oleh Santoso *et al.* (2023), pada konsentrasi 50-100% ekstrak madu memiliki daya hambat sedang karena zona hambat yang terbentuk 6-9 mm,

dikarenakan konsentrasi dalam kandungan madu lebih banyak dan mengakibatkan tingginya osmolaritas pada madu. Osmolaritas mengakibatkan terjadi interaksi kuat antara molekul gula dengan molekul air yang tersedia sangat sedikit yang mengakibatkan baktri sulit hidup.

Analisis madu *Trigona sp.* menggunakan metode LC-MS/MS yang dilakukan oleh Seder *et al.* (2021), telah mengidentifikasi 30 senyawa fenolik utama di dalam madu *Trigona*, termasuk quercetin, kaempferol, rutin, catechin, caffeic acid ferulic acid dan gallic acid. Senyawa ini berperan dalam meningkatkan antoksidan, antibakteri dan antiinflamasi madu. Pada penelitian ini menunjukkan madu *Trigona sp.* memiliki kandungan fenolik hingga 42 kali lebih tinggi dibandingkan dengan madu lain.

Metode GC-MS dipilih karena memiliki keunggulan dalam memisahkan dan mengidentifikasi senyawa-senyawa volatil (mudah menguap) dalam sampel kompleks, serta memberikan informasi detail, serta memberikan informasi detail tentang struktur dan massa molekul senyawa (Candraningrat *et al.*, 2021). Madu memiliki senyawa yang mudah menguap dan metode GC-MS mampu memisahkan dan mendeteksi senyawa volatil dan semi volatil yang sangat kecil dengan tingkat akurasi yang tinggi. Metode ini salah satu teknik analisis yang efektif dan efisien untuk mengidentifikasi bahan alami yang kompleks seperti madu (Zahra *et al.*, 2021). Etanol pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi madu di ikuti oleh pelarut lain seperti metanol, etil eter, air, heksana dan kloroform (Wendersteyt *et al.*, 2021). Hasil ekstraksi yang dilakukan oleh Zahra *et al.*, (2021) menunjukkan 500 gram madu yang diekstrak menggunakan etanol 75% menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat keemasan.

Hasil analisis madu *Trigona* menggunakan metode GC-MS yang dilakukan oleh Damayanti *et al.* (2019) menunjukkan bahwa madu *Trigona sp.* mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk hexamethylcyclotrisiloxane, 2-hydroxy-2-cyclopenten-1 one, 2-coumaranone, dan diethyl bis(trimethylsilyl) ester silicic acid, senyawa ini diduga berkontribusi terhadap sifat antibakteri dan antioksidan yang menjadikannya lebih unggul dibandingkan madu lebah lainnya. Penelitian ini tidak melakukan pengujian lanjutan terhadap aktivitas biologis, seperti potensi antioksidan dan antibakteri, dari senyawa-senyawa yang teridentifikasi. Hasil analisis menggunakan

metode GC-MS yang dilakukan oleh Zahra *et al.* (2021) melaporkan bahwa madu *Trigona* sp. telah menunjukkan bahwa ekstrak etanol madu *Trigona* sp. memiliki berbagai macam senyawa aktivitas antibakteri, antara lain 1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine, Proponal, 2,3-dihydroxy, Pentanoic acid, propyl ester, 2-Amino-9-(3,4-dihydroxy-5-) yang dikenal memiliki efek antibakteri, antimikroba dan antivirus. Senyawa asam lemak seperti Dodecanocic acid (asam laurat), Octadec-9-enoic acid (asam oleat), dan Octadecanoid acid ( asam stearat) dikenal memiliki efek antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan.

Aktivitas antibakteri madu dipengaruhi oleh kemampuan lebah mencari nektar tumbuhan. Sebab tumbuhan yang terletak pada setiap lokasi akan berbeda dan dapat mempengaruhi kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam madu dapat berbeda karena dipengaruhi oleh sumber tumbuhannya (Maharani *et al.*, 2022). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hafzari *et al.* (2025) mengidentifikasi komposisi botani dari madu *Trigona* sp. multiflora dari Taman Tesso Nilo, Riau, menggunakan pendekatan DNA metabarcoding dengan gen ITS2. Hasil analisis menunjukkan bahwa madu tersebut berasal dari tiga spesies tumbuhan, yaitu *Syzygium aromaticum* (46%), *Amaranthus dubius* (44%), dan *Capsicum annum* (10%). Ketiga tumbuhan ini dikenal memiliki potensi sebagai tanaman obat. Simanullang *et al.* (2025) juga menunjukkan bahwa madu Trigona menunjukkan perbedaan komposisi berdasarkan warna, di mana madu berwarna gelap, khususnya madu hitam, ditemukan memiliki kadar air yang lebih rendah serta tingkat keasaman yang lebih tinggi, yang menunjukkan stabilitas kimia yang lebih baik. Madu berwarna hitam ini juga mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan madu berwarna terang. Kandungan ini berperan penting dalam meningkatkan aktivitas antioksidan dan antimikroba madu.

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini menggunakan madu *Trigona* multiflora asal Riau untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang berpotensi sebagai aktivitas antibakteri menggunakan metode GC-MS dan melakukan pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode Kirby-Bauer.

## 1.2 Identifikasi Masalah

1. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri menjadi penyebab kematian di dunia termasuk Indonesia.

2. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dan berlebihan dapat menyebabkan resistensi antibiotik.
3. Madu *Trigona* sp. dikenal memiliki senyawa aktivitas antibakteri, tetapi penelitian Madu *Trigona* sp. asal Riau belum ada melakukan pengujian aktivitas biologisnya seperti mengidentifikasi senyawanya yang berpotensi antibakteri sebagai bahan alami untuk pengobatan penyakit infeksi.

### 1.3 Ruang Lingkup

Ruang Lingkup penelitian ini difokuskan pada madu *Trigona* sp. dan efektivitasnya sebagai antibakteri, terutama pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Penelitian ini juga mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode Skrining Fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis, Kromatografi Kolom, dan GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry). Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak etanol madu dan fraksi madu dengan mengukur zona hambat pada media agar dengan metode difusi cakram.

### 1.4 Batasan Masalah

1. Penelitian ini berfokus pada madu yang dihasilkan oleh lebah *Trigona* sp. dan tidak mencakup pada madu dari lebah lain
2. Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) yaitu bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, penelitian ini menggunakan tiga bakteri MDR yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Bakteri ini mewakili bakteri gram positif dan gram negatif.
3. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan menggunakan ekstrak etanol dari madu dan fraksi madu hasil Kromatografi Kolom.
4. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dilakukan menggunakan empat metode, yaitu skrining fitokimia, KLT (Kromatografi Lapis Tipis), KK (Kromatografi Kolom) dan GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry).

### 1.5 Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit apa saja yang teridentifikasi pada ekstrak etanol madu *Trigona* sp. melalui analisis skrining fitokimia?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol madu *Trigona* sp. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*?
3. Bagaimana hasil pemisahan senyawa ekstrak etanol madu *Trigona* sp. melalui KLT dan kromatografi kolom?
4. Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi metabolit sekunder madu *Trigona* sp. terhadap bakteri uji?
5. Senyawa metabolit sekunder apa saja yang berpotensi sebagai antibakteri dari fraksi madu *Trigona* melalui analisis GC-MS?

### 1.6 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol madu *Trigona* sp. melalui analisis skrining fitokimia.
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol madu *Trigona* sp. terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.
3. Untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa ekstrak etanol madu *Trigona* sp. melalui KLT dan Kromatografi Kolom
4. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi metabolit sekunder madu *Trigona* sp. terhadap bakteri uji.
5. Untuk mengidentifikasi senyawa aktif dari fraksi madu *Trigona* sp. yang berpotensi sebagai antibakteri melalui analisis GC-MS.

### 1.7 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu untuk memberikan potensi efektivitas madu *Trigona* sp. dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan meliputi pengidentifikasian kandungan senyawa metabolit sekunder madu *Trigona* sp. sebagai antibakteri melalui metode GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry), serta dapat memberikan kontribusi terbaru terhadap perkembangan pengetahuan dan penelitian.



THE  
*Character Building*  
UNIVERSITY