



ANALISIS FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU HUTAN TIMOR TERHADAP *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus*

FAJAR OKTA UNDARI



PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025



(a) Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Analisis Fisikokimia dan Aktivitas Antibakteri Madu Hutan Timor terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2025

Fajar Okta Undari
B3501211034



RINGKASAN

FAJAR OKTA UNDARI. Analisis Fisikokimia dan Aktivitas Antibakteri Madu Hutan Timor terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Dibimbing oleh HADRI LATIF dan MIRNAWATI BACHRUM SUDARWANTO.

Kemunculan bakteri yang resistan terhadap antibiotik telah menjadi perhatian dunia. Madu yang dikenal akan kemampuannya sebagai antimikrob diharapkan bisa menjadi alternatif untuk mengatasi masalah tersebut. Aktivitas antimikrob madu dikaitkan dengan sifat fisikokimia madu berupa kadar air dan aktivitas air yang rendah. Kandungan hidrogen peroksida (H_2O_2) dan senyawa fitokimia seperti flavonoid juga memengaruhi kemampuan antibakteri madu. Pinocembrin dan kaempferol merupakan senyawa flavonoid yang ditemukan dalam madu serta dikenal karena kemampuannya sebagai antimikrob. Penelitian yang mengkaji tentang sifat fisikokimia, senyawa antibakteri dan aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap bakteri yang resistan antibiotik masih sangat terbatas, oleh karena itu penelitian ini bertujuan menganalisis sifat fisikokimia, H_2O_2 , pinocembrin, dan kaempferol, serta menguji aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap bakteri *Multidrug-Resistant* (MDR).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan teknik pengambilan sampel secara purposif. Sampel berupa madu hutan asal Pulau Timor yang dipanen pada bulan September 2022. Masing-masing sampel diambil dari 7 koloni yang berbeda. Isolat bakteri yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu hutan Timor adalah *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC strain No. 43300. Penelitian ini terdiri dari 3 tahap yaitu 1) tahap pengujian fisikokimia, 2) tahap pengujian H_2O_2 , pinocembrin dan kaempferol, dan 3) tahap pengujian aktivitas antibakteri madu terhadap bakteri MRSA.

Metode pemanenan madu mengacu pada SNI 8664:2018. Madu dimasukkan ke dalam botol kaca disimpan di tempat yang gelap, pada suhu ruangan. Pengujian kadar air, aktivitas air, dan pH madu dilakukan dengan menggunakan refraktometer, a_w -meter dan pH meter secara berturut-turut. Kuantifikasi H_2O_2 dilakukan dengan menggunakan *peroxide test strips*. Ekstraksi senyawa pinocembrin dan kaempferol menggunakan metode ekstraksi fase padat dan dikarakterisasi menggunakan *High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector* (HPLC-DAD). Uji aktivitas antibakteri madu hutan Timor terhadap MRSA dilakukan dengan metode difusi cakram sesuai prinsip kerja metode Kirby-Bauer dengan vankomisin digunakan sebagai kontrol positif. Cakram kosong steril dengan diameter 6 mm dijenuhkan dengan madu sebanyak 1 mL selama 12–24 jam sebelum digunakan dalam uji aktivitas antibakteri. Data hasil pengujian terkait sifat fisikokimia, kadar H_2O_2 , pinocembrin dan kaempferol dianalisis dengan uji pendugaan rata-rata. Sedangkan data terkait daya hambat madu hutan Timor terhadap MRSA dianalisis menggunakan uji-t dua sampel.

Rata-rata kadar air madu hutan Timor pada sampel madu hutan Timor adalah 17,52%, dengan selang kepercayaan 95% antara 14,5%–20,6%. Kadar air madu hutan Timor telah memenuhi syarat SNI 8664:2018 dan Codex Alimentarius Commission Standards. Rata-rata aktivitas air pada sampel madu hutan Timor adalah 0,6, dengan selang kepercayaan 95% antara 0,59–0,61. Hal ini menunjukkan



bahwa dengan tingkat kepercayaan 95%, rata-rata aktivitas air dalam populasi madu hutan Timor berada pada rentang tersebut. Aktivitas air madu hutan Timor yang rendah menjadi salah satu faktor penentu aktivitas antibakterinya, karena sebagian besar bakteri tumbuh optimal pada a_w 0,91. Rata-rata pH pada sampel madu hutan Timor adalah 4,18, dengan selang kepercayaan 95% antara 3,88–4,48. Keasaman madu menjadi faktor penting dalam aktivitas antibakterinya, karena sebagian besar bakteri tumbuh pada kisaran pH 6,5–7,5.

Rata-rata konsentrasi H_2O_2 pada sampel madu hutan Timor adalah 109,1 $\mu\text{mol/L}$, dengan selang kepercayaan 95% antara 65,54–152,66 $\mu\text{mol/L}$. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kandungan H_2O_2 pada madu hutan Timor bervariasi. Faktor yang memengaruhi kandungan H_2O_2 adalah kondisi penyimpanan, pemrosesan, kesehatan dan pakan koloni lebah, serta substansi lain dalam madu yang bisa mengurai H_2O_2 . Rata-rata konsentrasi pinocembrin pada sampel madu hutan Timor adalah 2,2 mg/100 g, dengan selang kepercayaan 95% antara 0,44–3,96. Kandungan pinocembrin pada madu hutan Timor relatif tinggi jika dibandingkan dengan kadar pinocembrin madu Belgia dan madu Swiss. Rata-rata konsentrasi kaempferol pada sampel madu hutan Timor adalah 1,7 mg/100 g, dengan selang kepercayaan 95% antara 1,05–2,35. Rata-rata konsentrasi kaempferol madu hutan Timor juga berada di atas rata-rata konsentrasi kaempferol yang tercantum di database USDA tahun 2011. 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. Aktivitas antibakteri tersebut dikaitkan dengan sifat fisikokimia dan senyawa antibakteri alami yang terkandung dalam madu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa madu hutan Timor memiliki sifat fisikokimia dan kandungan senyawa yang mendukung aktivitas antibakteri. Efektivitasnya sebanding dengan vankomisin, sehingga berpotensi sebagai agen alternatif dalam mengatasi resistansi antibiotik.

Kata kunci : antibakteri, fisikokimia, fitokimia, madu hutan Timor, MRSA

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SUMMARY

FAJAR OKTA UNDARI. Physicochemical Analysis and Antibacterial Activity of Timor Forest Honey Against *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Supervised by HADRI LATIF and MIRNAWATI BACHRUM SUDARWANTO.

The emergence of antibiotic-resistant bacteria has become a global concern. Honey has the potential to serve as an alternative agent in combating antibiotic resistance. Its antimicrobial activity, is attributed to various factors, including its physicochemical characteristics such as low water content and water activity as well as the presence of hydrogen peroxide (H_2O_2) and phytochemical compounds such as flavonoids. Among these, pinocembrin and kaempferol are flavonoid compounds found in honey that have been reported to exhibit antimicrobial effects. However, research on the physicochemical properties, antibacterial compounds, and antibacterial activity of Timor forest honey against antibiotic-resistant bacteria remains very limited. Therefore, this study aimed to determine the physicochemical properties, H_2O_2 , pinocembrin, kaempferol and antimicrobial activity of Timor forest honey against *Multidrug-Resistant* (MDR) bacteria.

This research was a laboratory experimental research employing purposive sampling technique. The samples consisted of Timor forest honey from Timor Island, harvested in September 2022. Each sample was obtained from 7 colonies. The bacterial isolate used to evaluate antibacterial activity of Timor forest honey was *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC strain No. 43300. The research was conducted in 3 stages : 1) physicochemical analysis, 2) analysis of H_2O_2 , pinocembrin and kaempferol, and 3) antibacterial activity of Timor forest honey against MRSA.

Honey harvesting method referred to Indonesian National Standard (SNI 8664:2018). Honey was placed in glass bottles and stored in dark place at room temperature. Moisture content, water activity, and pH of honey were measured using a refractometer, water activity meter, and pH meter, respectively. Quantification of H_2O_2 was carried out using peroxide test strips. Pinocembrin and kaempferol compounds were extracted using the solid-phase extraction method and characterized using High-Performance Liquid Chromatography with a Diode Array Detector (HPLC-DAD).

The antibacterial activity against MRSA was evaluated using disc diffusion method based on Kirby-Bauer protocol, with vancomycin as the positive control. Sterile blank discs (6 mm in diameter) were saturated in 1 mL of honey for 12-24 hours prior to use in the antibacterial activity test. Data on physicochemical properties, H_2O_2 content, pinocembrin and kaempferol were analyzed using mean estimation test, while the inhibition zone diameter data were analyzed using two-sample t-test.

The average moisture content of Timor forest honey samples is 17,52%. with a 95% confidence interval ranging from 14,5% to 20,6%. This value complies with the requirements of SNI 8664:2018 and the Codex Alimentarius Commission Standards. The average water activity (a_w) of the samples was 0,6, with a 95% confidence interval ranging from 0,59–0,61. The low water activity of Timor forest honey is one of the key factors contributing to its antibacterial activity, as most bacteria grow optimally at a water activity of 0,91. The average pH of the samples



was 4,18, with a 95% confidence interval ranging from 3,88–4,48. The acidity of honey is an important factor in its antibacterial activity, as most bacteria grow within a pH range of 6,5–7,5.

The average concentration of H_2O_2 of the samples is 109,1 $\mu\text{mol/L}$. with a 95% confidence interval ranging from 65,5 $\mu\text{mol/L}$ to 152,66 $\mu\text{mol/L}$. The results indicate considerable variation in H_2O_2 content, which may be influenced by storage and processing conditions, the health and nutrition of bee colonies, and the presence of substances in honey that can degrade H_2O_2 . The average pinocembrin concentration of the samples is 2,2 mg/100 g with a 95% confidence interval ranging from 0,44 mg/100 g to 3,96 mg/100 g, which is relatively high compared to levels reported in Belgian and Swiss honey. The average kaempferol concentration in Timor forest honey is 1,7 mg/100 g with a 95% confidence interval ranging from 1,05 mg/100 g to 2,35 mg/100 g, exceeding the average values listed in USDA 2011 database.

The inhibition zone produced by Timor forest honey and vancomycin against MRSA were not significantly different with average diameters of $13,93 \pm 0,23$ mm and $14,33 \pm 0,05$ mm, respectively. The antibacterial activity of Timor forest honey is attributed to its physicochemical properties and the presence of bioactive compounds. The results indicate that Timor forest honey possesses physicochemical properties and bioactive compounds that contribute to its antibacterial activity. Its effectiveness highlights its potential as a natural alternative to combat antibiotic-resistant bacteria. These findings highlight its potential as a natural alternative for combating antibiotic-resistant bacteria.

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



© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**ANALISIS FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS
ANTIBAKTERI MADU HUTAN TIMOR TERHADAP
*METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus***

FAJAR OKTA UNDARI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



(a) Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. drh. Herwin Pisestyani, M.Si



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

Nama : Fajar Okta Undari

NIM : B3501211034

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. med. vet. drh. Hadri Latif, M.Si.



Pembimbing 2:

Prof. Dr. med. vet. drh. Mirnawati B. Sudarwanto



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, M.S., Ph.D.,
AP.Vet, DACC.M.

NIP 19600228 198601 1 001



Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis:

Prof. drh. Amrozi, Ph.D

NIP 19700721 199512 1 001



Tanggal Ujian

04 Juli 2025

Tanggal Lulus :



(a) Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanaahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga tesis ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Juni 2022 sampai Desember 2022 ini ialah madu hutan Timor, dengan judul “Analisis Fisikokimia dan Aktivitas Antibakteri Madu Hutan Timor terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. med. vet. drh. Hadri Latif, M.Si. dan Prof. Dr. med. vet. drh. Mirnawati Bachrum Sudarwanto selaku komisi pembimbing atas bimbingan, saran dan motivasi yang telah diberikan. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr. drh. Herwin Pisestyani, M.Si. selaku dosen penguji yang banyak memberikan saran dan masukan untuk kesempurnaan tesis ini. Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih kepada Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, M.S, Ph.D, AP.Vet, DACCM selaku ketua program studi Ilmu Biomedis Hewan beserta segenap staf pengajar Divisi Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Epidemiologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis IPB University (SKHB IPB University) atas ilmu dan pengalaman yang diberikan selama ini. Penghargaan penulis sampaikan kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian (BPPSDMP) Kementerian Pertanian RI dan Kepala Balai Besar Pelatihan Peternakan Kupang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan magister dan dukungan beasiswa selama pendidikan ini. Ungkapan terima kasih disampaikan kepada Dr. med. vet. drh. Puji Rahayu, M.Si. serta segenap staf laboratorium Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan Kementerian Pertanian yang telah banyak membantu selama proses penelitian Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada masyarakat di Desa Tublopo, Kecamatan Bikomi Selatan, Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur yang telah membantu dalam pengambilan sampel madu hutan Timor.

Ucapan terima kasih yang mendalam penulis sampaikan kepada keluarga tercinta, terutama kepada bapak dan ibu (almarhum), suami Muhammad Safik, ananda Nim Mahulauw dan Liv Mahulauw atas segala doa, dukungan moral dan materiil, serta cinta kasih yang tiada henti selama proses pendidikan ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada saudara-saudara penulis yang selalu memberi semangat dan menjadi tempat berbagi dalam setiap langkah perjalanan akademik ini.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2025

Fajar Okta Undari



(a) Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	1
1.3 Manfaat Penelitian	1
II TINJAUAN PUSTAKA	2
2.1 Madu Hutan Timor	2
2.2 Kemampuan Antimikrob Madu	2
2.3 Tekanan Osmosis	2
2.4 Keasaman (pH)	3
2.5 Hidrogen Peroksida	3
2.6 Senyawa Flavonoid	3
2.7 <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	4
III METODE	5
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	5
3.2 Desain Penelitian	5
3.3 Bahan dan Alat	5
3.4 Pemanenan Madu Hutan Timor	5
3.5 Pengujian Sifat Fisik Madu	6
3.6 Pengukuran pH Madu	6
3.7 Kuantifikasi Hidrogen Peroksida (H ₂ O ₂)	6
3.8 Ekstraksi dan Karakterisasi Senyawa Pinocembrin dan Kaempferol	7
3.9 Uji Aktivitas Antibakteri Madu terhadap MRSA	7
3.10 Analisis Data	7
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	8
4.1 Sifat Fisikokimia Madu Hutan Timor	8
4.2 Hidrogen Peroksida dan Senyawa Fitokimia Madu Hutan Timor	9
4.3 Daya Hambat Madu Hutan Timor Terhadap <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>	11
V SIMPULAN DAN SARAN	13
5.1 Simpulan	13
5.2 Saran	13
DAFTAR PUSTAKA	14
RIWAYAT HIDUP	17



DAFTAR TABEL

1	Hasil analisis sifat fisikokimia madu hutan Timor	8
2	Hasil analisis H ₂ O ₂ dan senyawa fitokimia pada madu hutan Timor	9
	Diameter zona hambat madu hutan Timor terhadap MRSA	11

DAFTAR GAMBAR

	Pemanenan madu hutan Timor	6
2	Zona hambat pada pengujian aktivitas antibakteri	11