AKTIVITAS ANTIBAKTERI HIDROGEL MADU KELULUT (*Heterotrigona itama*) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145

Dinda Puji Agustin[1], Hendra Wana Nur'amin[2], Noor Muthmainah[3], Nanang Miftah Fajari[2], Rahmiati[3], Isnaini[4]

[1]Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[2]Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[3]Departemen Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[4]Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Email korespondensi: agustindindapuji@gmail.com

Abstract: Bacterial infection is a health problem that often occurs in patients with Diabetes Mellitus and causes diabetic foot ulcers. *P. aeruginosa be a pathogen in the wound. For treatment can use natural ingredients kelulut honey. The purpose of this study was to determine whether there was a different antibacterial activity of kelulut honey hydrogel (Heterotrigona itama) concentrations of 20% and 25%, control treatment against P. aeruginosa ATCC 10145 based on diameter of inhibition zone. This study used true experiments with posttests only with control group design. The research data were tabulated, and One-Way ANOVA and Post hoc Duncan tests were carried out until significant differences were found p <0.05. The 20% concentration treatment produced an average inhibition zone diameter of 13.017 mm and a 25% concentration of 17.033 mm. The results showed that there was a 25% concentration hydrogel that has stronger antibacterial activity than other treatments.*

Keywords: *antibacterial, hydrogel, stingless bee honey, Heterotrigona itama, Pseudomonas aeruginosa*

Abstrak: Infeksi bakteri merupakan masalah kesehatan yang sering terjadi pada penderita Diabetes Melitus dan menyebabkan terjadinya luka kaki diabetes. *P. aeruginosa* menjadi patogen pada luka. Pengobatannya dapat menggunakan bahan alami madu kelulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antibakteri hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 20% dan 25%, perlakuan kontrol terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 berdasarkan diameter zona hambat. Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dan rancangan *posttest only with control group design*. Data hasil penelitian ditabulasi kemudian di uji *One-Way ANOVA* dan *Post hoc Duncan* hingga ditemukan perbedaan secara nyata dengan p <0,05. Perlakuan konsentrasi 20% menghasilkan rerata diameter zona hambat 13,017 mm dan konsentrasi 25% sebesar 17,033 mm. Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan perlakuan lain.

Kata-kata kunci: antibakteri, hidrogel, madu kelulut, *Heterotrigona itama, Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Infeksi bakteri merupakan masalah kesehatan yang sering ditemukan di Masyarakat dan salah satunya adalah infeksi pada luka pasien diabetes melitus (DM).[1] Angka kejadian DM secara global akan meningkat dari 171 juta jiwa menjadi 366 juta jiwa pada tahun 2030 dan dari seluruh populasi tersebut sekitar 15 hingga 20 pasien mengalami luka kaki diabetes.[2] Luka terbuka pada pasien DM dengan luka kaki memicu masuknya bakteri. Tingginya kadar gula dalam darah menjadi nutrisi serta media pertumbuhan bakteri.[3] Isolat bakteri gram negatif yang menginfeksi luka pasien ulkus diabetik di RSUD Ulin Banjarmasin periode 2018-2020 dilaporkan meningkat, sebesar 59,1%, 66,7%, dan 75%. Salah satu isolat yang ditemukan adalah *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) sebanyak 3,7%.[4]

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang dapat mengganggu proses penyembuhan luka karena memiliki faktor virulensi dan kemampuan membentuk biofilm yang menghambat kerja antimikroba.[5] Jika luka yang terinfeksi bakteri tidak diberikan perawatan dengan tepat, bakteri akan semakin merusak daerah luka dan menyebabkan terjadinya peradangan, pembusukan hingga abses yang meningkatkan risiko terjadinya amputasi dan kematian. Salah satu pengobatan topikal yang dapat digunakan adalah Cutimed® gel, berupa *dressing* yang dapat meningkatkan proses penyembuhan luka.

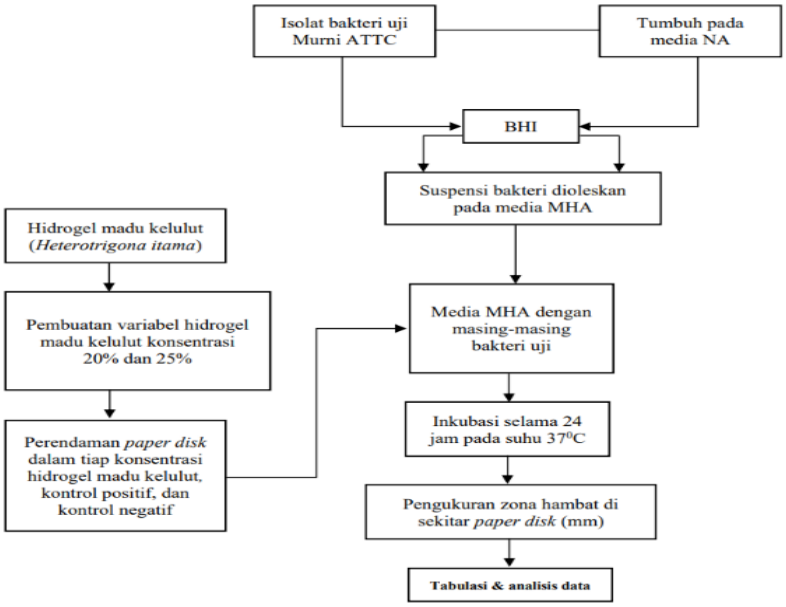
Metode *modern dressing* merupakan salah satu metode yang efektif untuk perawatan luka. Metode ini menggunakan *foam dressing* dan hidrogel, berupa bahan mengandung air yang dapat menghidrasi luka, menciptakan suasana yang lembap, tidak lengket, mampu menyerap eksudat, dan menjadi debridemen alami.[6,7] Kombinasi polimer hidrogel dan bahan alam seperti madu dalam bentuk terapi topikal berpeluang menjadi pembalut luka karena mengandung nutrisi yang efektif sebagai antibakteri.[8] Penggunaan madu sebagai antimikroba alternatif telah lama dimanfaatkan untuk mengatasi suatu infeksi bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan antiseptik sintetis.[9] Madu diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri, berefek bakterisidal spektrum luas, memicu proliferasi epitel lebih cepat, dan memiliki kemampuan absorpsi edema di sekitar ulkus.[10,11] Perbedaan aktivitas antibakteri madu dipengaruhi oleh jenis, bentuk sediaan, dan konsentrasi madu, serta jenis mikroba uji.[12]

Salah satu madu yang terdapat di Kalimantan Selatan adalah madu dari lebah kelulut (*Heterotrigona itama*). Madu kelulut dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibakteri, dan anti inflamasi karena mengandung gula, protein, asam, flavonoid, fenol, peptida, kadar air dan keasaman yang tinggi.[13] Madu kelulut dalam bentuk sediaan hidrogel dapat meningkatkan kemampuannya sebagai antibakteri. Dari hasil uji homogenitas, daya lekat, dan stabilitas dari sediaan hidrogel madu kelulut, konsentrasi yang baik adalah pada konsentrasi 20% dan 25% (Lampiran 1). Pengamatan aktivitas suatu zat antibakteri dapat ditentukan secara kuantitatif menggunakan metode difusi dengan mengukur besaran zona hambat.

Uraian pada latar belakang masalah, menggambarkan adanya aktivitas antibakteri pada madu kelulut, namun belum banyak informasi mengenai aktivitas antibakteri madu kelulut (*Heterotrigona* itama) dalam bentuk sediaan hidrogel. Landasan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas antibakteri hidrogel madu kelulut terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 berdasarkan diameter zona hambat konsentrasi 20% dan 25%.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan metode *true experimental* dan rancangan *posttest only with control group design* untuk menganalisis aktivitas antibakteri hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama)* terhadap *P.* aeruginosa ATCC 10145 berdasarkan diameter zona hambat konsentrasi 20% dan 25%.[14] Untuk pengujian digunakan hidrogel madu kelulut konsentrasi 20% dan 25%, Cutimed® gel sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Jumlah pengulangan untuk setiap kelompok adalah enam kali yang didapatkan berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer .



Gambar 1. Tahapan Penelitian

Penelitian diawali dengan persiapan isolat bakteri uji yaitu perbanyakan dan homogenisasi bakteri uji pada media *Nutrient* Agar (NA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang terbentuk diambil 1 ose untuk dimasukkan ke dalam media *brain heart infusion* (BHI) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian, dilakukan penambahan aquades steril hingga mencapai kekeruhan yang setara dengan larutan standar *Mc Farland* 0,5 (setara 1,5 X 10^8 CFU/mL).

Suspensi bakteri yang telah distandarkan diambil dengan kapas lidi steril dan dioleskan pada media *Mueller-hinton* agar (MHA), lalu kapas lidi diletakkan pada wadah kaca berisi larutan antiseptik. *Paper disk* direndam pada masing-masing perlakuan. Untuk perlakuan hidrogel madu kelulut konsentrasi 20% dan 25% direndam dan diinkubasi terlebih dahulu pada inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam. Perendaman *paper disk* pada kontrol positif Cutimed® gel dan kontrol negatif aquades steril dilakukan selama 2 jam. *Paper disk* yang telah direndam di dalam masing-masing sediaan dimasukkan ke dalam media MHA menggunakan pinset. Kemudian, semua media yang diuji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi menunjukkan besaran diameter zona hambat berupa zona bening yang ada di sekitar daerah pertumbuhan bakteri uji dan diukur menggunakan *calliper mistar* pada zona bening yang muncul pada sekeliling *paper disk*.

Data hasil diameter zona hambat ditabulasi dan dianalisis secara statistik menggunakan *Statistical Package for the*

Social Sciences (SPSS) versi 26.0 *for windows.* Data yang didapatkan diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-wilk* (jumlah sampel <50) dan uji homogenitas varian dengan uji *Levene's test.* Data yang telah terdistribusi normal dan homogen dilakukan analisis parametrik secara one-way ANOVA pada tingkat kepercayaan 95% (α = 0,05). Hasil uji one-way ANOVA bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *post-hoc Duncan* untuk mengetahui salah satu perlakuan yang berbeda makna dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah terdaftar dalam kelaikan etik No. 109/KEPK-FKIK ULM/EC/VII/2024 yang diterbitkan oleh komisi etik penelitian kesehatan FKIK ULM (Lampiran 7). Hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona* itama) yang digunakan sebagai bahan uji telah dilakukan uji homogenitas, daya lekat, dan stabilitas, serta uji daya sebar di Laboratorium Farmakologi FKIK ULM (Lampiran 1). Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi cakram yang menggunakan cakram kertas saring untuk menampung zat antibakteri dan menguji sensitivitas bakteri terhadap antibakteri yang diujikan. Hasil pengamatan yang diperoleh adalah terbentuknya zona bening di sekitar cakram kertas saring pada media *Mueller Hinton agar* (MHA) yang menunjukkan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri.[15] Hasil pengukuran rerata zona hambat dari beberapa perlakuan dapat dilihat pada tabel 1. Hasil pengukuran rerata diameter zona hambat dan standar deviasi (SD) dari beberapa perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Tabel Pengukuran Aktivitas Antibakteri Hidrogel Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

No.	Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)						Rata-rata (mm)
		1	2	3	4	5	6	
1	Konsentrasi 20%	12,8	13,3	12,4	13,1	12,9	13,6	13,017
2	Konsentrasi 25%	16,7	16,9	17,5	17,6	16,3	17,2	17,033
3	Kontrol Positif	0,4	0,37	0,41	0,33	0,44	0,39	0,39
4	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 2. Rerata Diameter Zona dan Standar Deviasi Hambat Aktivitas Antibakteri Hidrogel Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

Perlakuan	Rerata±SD (mm)
Konsentrasi 20%	13,017±0,03[c]
Konsentrasi 25%	17,033±0,02[b]
Kontrol +	0,39±0,03[a]

Keterangan:
a) Nilai yang tertera pada tabel adalah nilai rerata±SD dari enam kali pengulangan (Lampiran 2).
b) Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji Duncan.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 2, ditemukan adanya perbedaan rerata diameter zona hambat sebagai efek dari perbedaan perlakuan terhadap bakteri uji. Seluruh perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa*. Diameter zona hambat terbesar ditunjukkan oleh perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 25%

terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 dengan rerata zona hambat sebesar 17,033 mm. Sedangkan, rerata diameter zona hambat perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 20% terhadap *P. aeruginosa* adalah sebesar 13,017 mm. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk dari Cutimed® Gel sebagai perlakuan kontrol positif terhadap *P. aeruginosa* sebesar 0,39 mm. Aquades steril sebagai kontrol negatif tidak membentuk zona hambat terhadap bakteri uji.

Hasil uji diameter zona hambat menunjukkan bahwa hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 20% dan 25% termasuk dalam kategori antibakteri kuat, sedangkan Cutimed® Gel sebagai kontrol positif termasuk dalam kategori antibakteri lemah.[16] Perbedaan yang terjadi dari kedua perlakuan tersebut sesuai dengan konsentrasi dan sediaan yang diujikan. Pada penelitian ini, hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 25% memiliki kandungan air lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 20%. Hal ini sesuai dengan penelitian Hu *et al*. bahwa aktivitas hambatan hidrogel madu terhadap *P. aeruginosa* akan semakin besar sesuai dengan peningkatan konsentrasi air pada hidrogel tersebut karena konsentrasi air meningkatkan aktivitas enzim antimikroba.[17]

Sebaran data hasil penelitian ini dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene's test* dengan tingkat kepercayaan 95%. Berdasarkan uji normalitas pada data perlakuan hidrogel madu kelulut *(Heterotrigona itama*) dan kontrol positif diperoleh nilai p >0,05, yang berarti semua data dari penelitian ini terdistribusi normal Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Sebaran Data Aktivitas Antibakteri Hidrogel Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145

Perlakuan	*Shapiro-Wilk*
	Signifikansi
Konsentrasi 20%	0,997
Konsentrasi 25%	0,794
Kontrol +	0,953

Hasil uji homogenitas data dari penelitian ini didapatkan nilai p >0,05, yang berarti sebaran data dari penelitian ini homogen atau dapat dikatakan tidak ada perbedaan varians pada data (lampiran 4). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 4.

Setelah diketahui bahwa data dari penelitian ini normal dan homogen, dilakukan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna dari masing-masing perlakuan terhadap *P. aeruginosa*. Didapatkan nilai signifikansi 0,000 (p <0,05) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna di antara perlakuan yang telah diuji (Lampiran 5). Hasil uji *One-Way ANOVA* dapat dilihat pada tabel 5.

Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Duncan* pada tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan hasil berbeda bermakna. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas Sebaran Data Aktivitas Antibakteri Hidrogel Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

	Levene Statistic	Signifikansi
Based on Mean	0,045	0,956
Based on Median	0,044	0,957
Based on Median and with adjusted df	0.044	0,957
Based on trimmed mean	0,045	0,956

Tabel 5. Hasil Uji *One-Way ANOVA* Sebaran Data Aktivitas Antibakteri Hidrogel Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

	Nilai Uji *One-Way ANOVA*	
	Nilai F	Signifikansi
Between Groups	9846,143	0,000

Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post-hoc Duncan* dengan Tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan hasil berbeda bermaka. Hasil uji dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6 Hasil Uji *Post-hoc Duncan* Sebaran Data Aktivitas Antibakteri Hidrogel Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

Perlakuan	Nilai Uji Lanjutan Duncan		
	Subset		
	1	2	3
Kontrol +	0,39		
Konsentrasi 20%		2,5658	
Konsentrasi 25%			2,8348

Berdasarkan tabel 6. dari perbedaan kolom nilai subset menunjukkan adanya perbedaan nyata antar varian, didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan secara nyata dari masing-masing perlakuan uji terhadap *P. aeruginosa*. Dari hasil penelitian ini didapatkan perbedaan zona hambat yang terbentuk pada media pertumbuhan bakteri uji sehingga diketahui bahwa peningkatan rerata diameter zona hambat sebanding dengan peningkatan konsentrasi air dari tiap perlakuan. Hal ini sesuai dengan penelitian Li et al.[18] yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi air pada hidrogel madu kelulut maka semakin besar daya hambatnya terhadap bakteri. Kandungan air yang lebih tinggi akan mempertahankan kelembapan lebih lama sehingga mengganggu aktivitas metabolisme bakteri.[18]

Berdasarkan hasil penelitian, maka hipotesis penelitian ini diterima yaitu terdapat aktivitas antibakteri yang berbeda dari hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 20% dan 25% serta kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 berdasarkan diameter zona hambat. Hasil dari uji *Post-Hoc Duncan* pada tabel 5.6. menunjukkan bahwa perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 25% memberikan efek paling besar dalam menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*. Hasil penelitian ini relatif sama dengan penelitian Wulandari et al.[19] yang menyebutkan konsentrasi ekstrak methanol propolis memiliki diameter zona hambat terhadap *P. aeruginosa* pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 50% dengan diameter zona hambat sebesar 7,74 mm, 8,05 mm, 9,36

mm, dan 12,17 mm.[19] Hal ini dikarenakan air mempertahankan kelembapan lingkungan dan meningkatkan kemampuan hidrogel menyerap dan mempengaruhi aktivitas bakteri.[17] Hasil perhitungan rerata diameter zona hambat hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 25% lebih besar dari Cutimed® Gel yang merupakan kontrol positif. Hasil ini sesuai dengan penelitian Braunwarth et al.[20] yang menyatakan bahwa pada uji difusi agar didapatkan Cutimed® gel membentuk zona hambat pada bakteri *P. aeruginosa* sebesar 0,2 mm dengan kemampuannya yang hanya menjaga kelembapan luka, tetapi tidak memiliki kemampuan terhadap aktivitas antibakteri.[20]

Zona hambat yang terbentuk pada media pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan bahwa hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona* itama) bersifat antibakteri dengan kandungan gula, flavonoid, tanin, alkaloid, serta kadar keasaman yang tinggi.[21] Kandungan gula menjadikan madu hipertonis sehingga bakteri mati karena dehidrasi. Hasil ini sesuai dengan penelitian Xiaoyun et al.[17] menyatakan kandungan air yang lebih tinggi pada hidrogel menyebabkan proses evaporasi lebih lambat dan kelembapan dipertahankan lebih lama, sehingga lapisan hidrogel tetap efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.[17] Evaporasi yang terjadi pada pembuatan hidrogel madu kelulut mempengaruhi aktivitas enzim. Pada hidrogel madu kelulut konsentrasi 20% terjadi evaporasi yang lebih cepat dan berpengaruh terhadap viskositas dan kekuatan gel serta mengubah laju pelepasan enzim. Pengurangan kandungan air akibat evaporasi menyebabkan perubahan struktur enzim, pada kelembapan yang lebih rendah enzim dapat kehilangan aktivitas katalitik dan biologisnya. Sedangkan hidrogel madu kelulut konsentrasi 25% mengalami proses evaporasi yang lebih lambat dan mengakibatkan kerja enzim menjadi lebih efektif dalam mengganggu metabolisme bakteri karena kandungan air mempercepat proses pelepasan komponen aktif dari madu dan menstabilkan aktivitas antibakteri.[22]

Senyawa flavonoid dapat mengikat protein dan menyebabkan kerusakan membran sel serta menghambat kerja enzim yang berperan dalam replikasi bakteri sehingga pertumbuhan bakteri turut terhambat. Dengan kandungan tersebut, flavonoid dapat mempengaruhi membran luar *P. aeruginosa* berupa lipopolisakarida dan protein yang berperan dalam menghalangi masuknya senyawa yang berbahaya terhadap *P. aeruginosa.* Senyawa tanin dapat mengganggu metabolisme dan merusak membran dari sitoplasma, senyawa aktif alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak penyusun peptidoglikan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel bakteri.[23] Selain itu, madu memiliki peptida antibakteri berasal dari lebah berupa defensin-1 yang dapat menyebabkan bakteri lisis dengan cara menghancurkan dinding sel bakteri.[24] Madu kelulut lebih khas dibanding madu jenis lain karena keasaman yang lebih tinggi sehingga membuat pertumbuhan bakteri terhambat karena terganggunya proses metabiolisme bakteri. Keasaman madu ini dapat meningkatkan aktivitas senyawa antibakteri seperti hidrogen peroksida dan asam fenolik sehingga turut mengganggu aktivitas bakteri.

Penelitian Majid et al.[25] menyebutkan bahwa madu kelulut kaya akan fenolik, yang terdiri dari flavonoid, asam fenolat, quercetin, kaemferol dan gallic acid memiliki aktivitas antioksidan dan dapat menjadi antibakteri. Senyawa fenolik bersifat lipofilik sehingga dapat menembus membran sel bakteri yang terbuat dari lapisan lipid. *P. aeruginosa* yang memiliki membran luar yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri gram positif dapat terganggu integritas membrannya dengan kemampuan senyawa fenolik yang dapat mengubah

permeabilitas membran bakteri. Senyawa fenolik juga dapat berfungsi sebagai agen pro-oksidan yang meningkatkan *reactive oxygen spesies* yang merusak komponen-komponen seluler seperti membran lipid, protein, dan DNA. Selain itu juga dapat menghambat proses transkripsi dan replikasi genetik dengan mengganggu sintesis asam nukleat.[25]

Struktur dari bakteri uji yaitu *P. aeruginosa* dapat mempengaruhi kemampuan antibakteri dari hidrogel madu kelulut. Bakteri *P. aeruginosa* sebagai bakteri gram negatif, memiliki membran luar yang tebal, yang terdiri dari lipopolisakarida, berperan dalam resistensi bakteri terhadap agen antibakteri. Hidrogel madu kelulut dengan kandungan senyawa aktif dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif ke dalam sel bakteri sehingga mampu merusak struktur membran dan permeabilitas bakteri. *P. aeruginosa* sangat efektif dalam pembentukan biofilm, yang menjadi salah satu mekanisme utama resistensi terhadap agen antibakteri karena memberi perlindungan agar membran bakteri sulit untuk ditembus oleh banyak antibiotik. Namun, kandungan hidrogel madu kelulut berupa asam fenolik dapat mengganggu struktur biofilm bakteri. Hidrogel madu kelulut dapat membawa senyawa aktif untuk menghambat agregasi bakteri dan mengubah matriks biofilm, sehingga meningkatkan kemampuan antibakteri dan penyerapan bahan aktif ke dalam lapisan biofilm.[26]

Keterbatas pada penelitian ini adalah dalam perendaman *paper disk* pada perlakuan hidrogel madu kelulut. Perendaman *paper disk* dapat dilakukan pada suhu suhu 45°C - 90°C selama 10 hari maupun 15-60 detik sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Turkmen et al.[27] Uji senyawa bioaktif tidak dilakukan pada penelitian ini sehingga belum diketahui efek murni serta perbandingan efektivitasnya dengan antibiotik sintesis pada berbagai bakteri. Penelitian ini menggunakan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram, adapun metode lain yang dapat digunakan adalah metode sumuran. Metode sumuran umum digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri secara kualitatif dari suatu ekstrak pada media agar dengan optimal.[28] Pada penelitian ini digunakan metode *in vitro,* untuk metode lain yang bisa digunakan adalah secara *in vivo* sehingga dapat diamati proses penyembuhan luka dan memberikan gambaran klinis yang lebih nyata dibandingkan pengujian *in vitro.*[29]

Bahan dasar yang digunakan dalam pembuatan hidrogel dapat mempengaruhi kemampuannya sebagai *dressing* pada perawatan luka. Hal ini disebabkan setiap bahan memiliki sifat kimiawi dan fisik yang berbeda, yang berperan pada kemampuan hidrogel untuk menyerap cairan, mempertahankan kelembapan, dan mendukung adanya difusi oksigen.[22] Kombinasi hidrogel dan madu kelulut dapat merangsang proliferasi sel dan pembentukan jaringan baru lebih cepat. Hidrogel madu kelulut memiliki biodegradabilitas dan biokompatibilitas yang baik, serta efektif dalam menyerap eksudat luka, menjaga kelembapan optimal dan mencegah maserasi kulit.[30]

PENUTUP

Berdasarkan hasil analisis aktivitas antibakteri hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 menggunakan metode difusi cakram dengan pengukuran diameter zona hambat konsentrasi 20% dan 25% didapat simpulan sebagai berikut. Diameter zona hambat terbesar dan terkecil dari perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) konsentrasi 20% terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 adalah 13,6 mm dan 12,4 mm. Diameter zona hambat terbesar dan terkecil dari perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*)

konsentrasi 25% terhadap *P. aeruginosa* ATCC 10145 adalah 17,6 mm dan 16,3 mm. Terdapat perbedaan rerata diameter zona hambat perlakuan hidrogel madu kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap *P. aeruginosa* pada tiap perlakuan uji dengan konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan perlakuan lain.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan penelitian sehingga peneliti memberikan saran dengan menggunakan metode perendaman *paper disk* di dalam hidrogel madu kelulut pada suhu 45°C-90°C. Selain itu, dapat dilakukan penelitian dengan uji senyawa bioaktif yang terdapat pada madu kelulut untuk mengetahui efek murni dan perbandingan efektivitasnya dengan antibiotik sintesis. Kemudian, penelitian lanjutan potensi antibakteri pada hidrogel madu kelulut terhadap berbagai mikroba patogen, penelitian dengan penggunaan metode sumuran untuk mengetahui metode mana yang paling efektif dalam menghitung diameter zona hambat hidrogel madu kelulun dan penelitian secara *in vivo* menggunakan hewan coba untuk mengetahui efektivitasnya sebagai *dressing* perawatan luka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wahyuni D, Kesuma S, Azahra S. Profil bakteri patogen dan antibiotik pada gangren diabetes melitus di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. Health Care: Jurnal Kesehatan. 2023;12(1):159–70.
2. Appapalam ST, Muniyan A, Mohan KV, Panchamoorthy R. A study on isolation, characterization, and exploration of multiantibiotic-resistant bacteria in the wound site of diabetic foot ulcer patients. International Journal of Lower Extremity Wounds. 2021;20(1):6–14.
3. Faswita W, Herawati L. Foot care in preventing diabetic ulcers in diabetes mellitus patients at Tanah Tinggi Health Center. Pengabdian Kepada Masyarakat. 2022;7(1):2022–268.
4. Sinaga JT, Liani FN, Pratiwi DIN. Pola kepekaan bakteri dari kultur pus pasien ulkus kaki diabetikum berdasarkan tingkat keparahan di RSUD Ulin Banjarmasin. 2021;4(2):297–304.
5. Wahyudi D, Soetarto ES. Pembentukan biofilm Pseudomonas aeruginosa pada beberapa media cair. Vol. 10, Journal of Pharmacy. 2021;10(2);35–40.
6. Handayani LT. Studi meta analisis perawatan luka diabetes dengan modern dressing. The Indonesian Journal Of Health Science. 2016;6(2):149–59.
7. Hamedi H, Moradi S, Hudson SM, Tonelli AE. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: a review. Carbohydrate Polymers. 2018;199:445–60.
8. Yuli A. Modifikasi hidrogel dengan penambahan madu: karakteristik sifat fisika-kimia hidrogel. Majalah Polimer Indonesia. 2019;22(1):19–23.
9. Kristanty RE, Suriawati J, Nugroho PD. Antimicrobial effect of honey distributed around Pasar Minggu Jakarta Selatan. SANITAS : Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan. 2017;8(2):101–6.
10. Karimi Z, Behnammoghadam M, Rafiei H, Abdi N, Zoladl M, Talebianpoor MS, et al. Impact of olive oil and honey on healing of diabetic foot: a randomized controlled trial. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2019;12:347– 54.
11. Gela A, Hora ZA, Kebebe D, Gebresilassie A. Physico-chemical characteristics of honey produced by stingless bees (Meliponula beccarii) from West Showa Zone of Oromia Region, Ethiopia. Heliyon. 2021;7(1).
12. Putri SA, Susanto H, Tambun SH, Oktiarso T. Uji aktivitas antibakteri

pada macam macam madu pada bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus dengan metode difusi agar dan dilusi cair. Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi. Farmasi; 2022;2(2):85–97.
13. Ayu N, Iswandi D, Risti G. Terapi madu pada penderita ulkus diabetikum. Medula, medical professional journal of Lampung University. 2019;9(1):192–197.
14. Syawalludin R, Sakit R, Kamino H, Kanan W. Kemampuan madu hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri Pseudomonas aeruginosa. Vol. 6, Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan. 2019;6(4):309-17.
15. Usanga VU, Elom MO, Umoh NO, Nworie A, Ukwah BN, Kalu ME, et al. Antibacterial activity of honey on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Streptococcus pyogenes isolated from wounds. J. Adv. Microbiol. 2020;20:51–7.
16. Jamilatun M, Aminah A, Shufiyani S. Uji daya hambat antibakteri kapang endofit dari tanaman alang-alang (Imperata cylindrica (l.) beauv.) terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli antibacterial inhibition test of endophytic fungi from alang-alang plants (Imperata cylindrica (l.) beauv.) on bacterial growth of Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Medikes (Media Informasi Kesehatan). 2020;7(2):335-46.
17. Hu X, Yang J, Tu Y, Su Z, Guan Q, Ma Z. Hydrogel-based interfacial solar-driven evaporation: essentials and trails. Gels. 2024;10(6):371.
18. Li B, Moriarty TF, Webster T, Xing M. Racing for the surface antimicrobial and interface tissue engineering. Springer; 2020.
19. Wulandari DT, Supomo S, Warnida H. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol propolis dari lebah kelulut (heterotrigona itama) terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus. Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi. 2023;11(2):1933–45.
20. Braunwarth H, Brill FH. Antimicrobial efficacy of modern wound dressings: Oligodynamic bactericidal versus hydrophobic adsorption effect. Wound Medicine. 2014;5:16–20.
21. Cahyadi MA, Sidharta BR, To'bungan N. Karakteristik dan efektivitas salep madu klanceng dari lebah trigona sp. sebagai antibakteri dan penyembuh luka sayat. Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati. 2019;4(3):104–9.
22. Li J, Mooney DJ. Designing hydrogels for controlled drug delivery. Vol. 1, Nature Reviews Materials. Nature Publishing Group. 2016;1(12):1-7.
23. Yuliati Y. Uji Efektivitas larutan madu sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosae dengan metode disk diffusion. 2017;11(1).
24. Combarros-Fuertes P, Fresno JM, Estevinho MM, Sousa-Pimenta M, Tornadijo ME, Estevinho LM. Honey: another alternative in the fight against antibiotic-resistant bacteria? Antibiotics. 2020;9(11):774.
25. Majid M, Ellulu MS, Abu Bakar MF. Melissopalynological study, phenolic compounds, and antioxidant properties of Heterotrigona itama honey from Johor, Malaysia. Scientifica. 2020;2020(1):2529592.
26. Klockgether J, Cramer N, Wiehlmann L, Davenport CF, Tümmler B. Pseudomonas aeruginosa genomic structure and diversity. Frontiers in microbiology. 2011 Jul 13;2:150.

27. Turkmen N, Sari F, Poyrazoglu ES, Velioglu YS. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. Food chemistry. 2006 Apr 1;95(4):653-7 heating on antioxidant activity and colour of honey. Food Chem. 2006 Apr;95(4):653–7.
28. Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. Jurnal Teknologi Hasil Peternakan. 2020;1(2):41.
29. Hendrata WM, Sandhika W, Dwi A, Widodo W. Evaluasi jaringan dalam studi in vivo pemberian ekstrak propolis pada model luka infeksi. Majalah Biomorfologi. 2019;29(2):32-9.
30. El-Kased RF, Amer RI, Attia D, Elmazar MM. Honey-based hydrogel: in vitro and comparative in vivo evaluation for burn wound healing. Scientific Reports. 2017;7(1):9692