

Antibacterial Activity Test of White Honey from Sumbawa NTB Againsts *Staphylococcus epidermidis*

I Komang Satya Vaidika^{1*}, Eustachius Hagni Wardoyos², Adelia Riezka Rahim¹

¹Progam Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Kota Mataram, Indonesia;

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Kota Mataram, Indonesia;

Article History

Received : October 10th, 2024

Revised : October 30th, 2024

Accepted : November 08th, 2024

*Corresponding Author: I

Komang Satya Vaidika,

Progam Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Kota Mataram, Indonesia;

Email:

Komangvaidika@gmail.com

Abstract: *Staphylococcus epidermidis* is the most common bacteria found on human skin that causes acne and is a coagulase-negative Staphylococcus species (CoNS). Resistance to methicillin is widespread, especially in *Staphylococcus epidermidis* bacteria or often called MRSE and is widespread globally ranging from 75-90%. Regarding antibiotic resistance, it is important to do research to find new alternatives to this problem. One of the natural antibiotics that can be used is honey which has benefits as an antibacterial because it has three systems that play a role in inhibiting bacterial growth, namely osmotic pressure, acidity and inhibine. The purpose of this study was to analyze the antibacterial effect of Sumbawa white honey on *Staphylococcus epidermidis* bacteria. The method used in this study was an analytical laboratory experiment with a Randomized Controlled Trial (RCT) type of post test only design. The method of making honey using disc diffusion was carried out 5 times at concentrations of 25%, 75%, 100%, positive chloramphenicol control and negative DMSO control. The results of the antibacterial test can be seen from the formation of the diameter of the inhibition zone on the disc paper. The results of the study obtained that at a concentration of 25% no inhibition zone could be formed, while in the 75% study an inhibition zone of 2.32 mm was formed and 100% of 6.71%. Based on the results of the antibacterial activity test, it can be concluded that the study on Sumbawa white honey at concentrations of 75% and 100% is included in the resistant/weak category and the activity is not effective in inhibiting the growth of *S. epidermidis*.

Keywords: Antibacterial activity, Sumbawa white honey, *Staphylococcus epidermidis*.

Pendahuluan

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri paling umum terdapat dalam kulit manusia yang menyebabkan munculnya jerawat dan merupakan spesies *Staphylococcus* koagulase-negatif (CoNS). Kolonisasi kulit yang disebabkan oleh strain spesifik *Staphylococcus epidermidis* memiliki efek yaitu merugikan sel inang pada kondisi tertentu. Kulit dalam kondisi sehat adalah salah satu penghalang yang kuat untuk patogen dan komensal, tetapi hal ini sangat berpengaruh terhadap perubahan perilaku

Staphylococcus epidermidis dari jinak menjadi patogen yang diakibatkan baik melalui mutasi genetik atau gangguan fisik.

Seseorang pengidap penyakit *dermatitis atopic*, pasien sering terinfeksi dengan *Staphylococcus epidermidis* pada lokasi lesi dan bakteri ini berkorelasi positif dengan tingkat keparahan penyakit. Dalam suatu studi metagenomic telah menunjukkan bahwa beberapa pasien *dermatitis atopic* dapat diinfeksi oleh *Staphylococcus epidermidis* daripada *Staphylococcus aureus* di lokasi lesi (Brown & Horswill, 2020). Beberapa tahun terakhir,

Staphylococcus epidermidis mendapatkan perhatian khusus terhadap kasus yang meningkat pada infeksi nosokomial. Isolat *Staphylococcus epidermidis* terhadap infeksi nosokomial adalah strain yang resisten terhadap methicillin karena transfer gen *mecA* resisten yang mengkode PBP2a (Jubeh et al., 2020).

Resistensi terhadap methicillin tersebar luas khususnya pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* atau yang sering disebut MRSE dan tersebar luas di global mulai dari 75-90%. Hal ini disebabkan adanya gen *mecA*, yang mengkode protein pengikat penisilin, PBP2a, dengan penurunan afinitas terhadap methicillin. Resistensi terhadap methicillin disebut heteroresistance, yang memiliki arti yaitu satu dari 104 sampai 108 sel yang menunjukkan tingkat resistensi methicillin yang tinggi. Resistensi antibiotik lainnya yaitu terhadap aminoglikosida dan makrolida, dan pada tingkat resistensi lebih rendah terdapat pada antibiotik tetrasiklin, chloramphenicol, dan klindamisin pada strain *Staphylococcus epidermidis* di rumah sakit. (Otto, 2012). Resistensi terhadap semua antibiotik pada *Staphylococcus epidermidis* telah terdata bersama dengan kemampuannya akan terbentuk biofilm pada peralatan medis dengan membutuhkan obat baru atau metode pengobatan lainnya.

Staphylococcus epidermis memiliki spesies yang sangat beragam, selain spesies yang berasal dari mutasi, bakteri ini juga berevolusi melalui rekombinasi dan dengan mudah memperoleh elemen genetik bergerak. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya urutan elemen genom bergerak, termasuk gen yang terkait dengan patogenisitas yang dimiliki oleh *Staphylococcus epidermidis*. (Fišarová et al., 2021). Berdasarkan permasalahan mengenai resistensi antibiotik, penting dilakukan penelitian untuk menemukan alternatif baru tentang permasalahan tersebut. Antibiotik dari bahan alami yang berasal dari sumber daya alam adalah salah satu alternatif baru yang dapat digunakan untuk menurunkan terjadinya resistensi antibiotik maupun memperpanjang efek dari antibiotik tersebut.

Indonesia termasuk negara dengan lingkungan tropis dan kekayaan sumber daya alam berupa satwa liar dan tumbuhan. Keanekaragaman flora dan fauna Indonesia memberikan banyak manfaat. Lebah madu

merupakan salah satu hewan yang memberikan banyak manfaat, terutama sebagai antibiotik alami. Indonesia memiliki banyak potensi untuk beternak lebah madu karena keanekaragaman hayati yang dimilikinya, yang meliputi tanaman pertanian, perkebunan, dan hutan yang dapat dimanfaatkan sebagai pakan lebah (Adalina, 2017). Salah satu pulau yang memiliki potensi dalam pengembangan lebah madu adalah Sumbawa, pulau yang terletak di provinsi Nusa Tenggara Barat, salah satu jenis madu yang dihasilkan adalah madu putih sumbawa yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera*. Lebah ini sering ditemukan pada dataran tinggi sekitar Gunung Tambora, Kabupaten Dompu. Madu dari lebah *Apis mellifera* memiliki manfaat yang tak kalah hebat dari madu sumbawa lainnya, seperti madu hitam Sumbawa hasil dari produksi lebah *Trigona* spp dan juga madu produksi lebah *Apis dorsata* (Manguntungi et al., 2021).

Lebah madu memiliki manfaat yang melimpah seperti madu putih. Madu merupakan salah satu hasil dari lebah madu yang didapatkan dari nektar. Nektar tersebut akan memberikan gambaran khas pada madu seperti aroma, warna, bau dan juga tekstur pada madu. Madu memiliki kandungan utama seperti gula dan air. Terdapat perbandingan yang besar antara kandungan gula dan air. Madu mengandung fruktosa, glukosa, dan bentuk gula lainnya seperti maltosa, sukrosa, isomaltosa, dan oligosakarida tertentu, sedangkan air mengandung kalium, kalsium, tembaga, besi, mangan, dan fosfor dalam jumlah yang sedikit. Madu merupakan suatu bahan alami yang bisa dijadikan sebagai antibakteri. Madu memiliki manfaat sebagai antibakteri karena memiliki tiga sistem untuk menghambat pertumbuhan bakteri yaitu tekanan osmosis, keasaman dan *inhibine* (Manguntungi et al., 2021).

Penelitian tentang uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* memiliki perbedaan terhadap zona hambat dari setiap antibakteri alami yang digunakan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Lumbantobing et al., dengan menggunakan antibakteri alami yaitu kunyit putih, didapatkan zona hambat berbeda dari setiap konsentrasi mulai dari konsentrasi 25% sampai konsentrasi 100% (Lumbantobing et al., 2022). Sementara itu, pada penelitian dengan menggunakan antibakteri alami yaitu daun binahong, didapatkan zona hambat berbeda dari

setiap konsentrasi. Konsentrasi 60% didapatkan zona hambat dengan luas 17 mm dan pada konsentrasi 100 % didapatkan zona hambat dengan luas 30 mm (Jurnal *et al.*, 2022). Melihat perbedaan yang dihasilkan dari setiap antibakteri alami terhadap *Staphylococcus epidermidis*, penulis tertarik untuk melakukan penelitian menggunakan antibakteri alami madu putih yang berasal dari Kabupaten Sumbawa NTB. Karena penulis menyimpulkan belum ada penelitian mengenai pengaruh antibakteri madu putih Sumbawa terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* nantinya akan menghasilkan zona hambat berbeda dari antibiotic alami lainnya.

Bahan dan Metode

Jenis Penelitian

Penelitian akan dilakukan dengan metode eksperimental analitik laboratorium dengan *Randomized Controlled Trial (RCT)* jenis *post test only design*. Untuk memastikan sampel dan variabel bebas terandomisasi dengan maksimal maka peneliti melakukan teknik *single blinding*, sehingga peneliti tidak mengetahui alokasi variabel bebas di setiap sampel.

Waktu dan tempat

Penelitian berlangsung dibulan Februari 2023 - Maret 2024 di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram.

Sampel penelitian

Sampel uji adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 yang berasal dari Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB) dan propolis madu putih dari Sumbawa .

Variabel penelitian

Variabel bebas

Konsentrasi madu 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif (Chloramphenicol) dan kontrol negatif (DMSO)

Variabel terikat

Luas diameter zona hambat pada media Muller Hinton Agar (MHA) bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Penyiapan sampel

Sampel Madu Putih Sumbawa didapatkan langsung dari peternak lebah madu putih hutan di Kabupaten Sumbawa, Provinsi Nusa Tenggara Barat. Madu diambil langsung dari sarang lebah dan ditempatkan di toples steril. Lalu toples steril yang berisikan madu putih dimasukkan ke box dengan suhu yang rendah untuk mempertahankan kondisi fisiologis dari madu putih. Kemudian dikirim ke Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram untuk dilakukan penelitian.

Pengenceran madu

Pengenceran madu putih dilakukan dengan memanfaatkan 4 wadah kosong yang dibagi menjadi 3 wadah untuk pengenceran madu dan 1 wadah sebagai tempat kontrol negatif. Setelah wadah telah siap, dilakukan pengambilan madu menggunakan mikropipet untuk dimasukan ke dalam masing-masing wadah kosong sebanyak 250 μ l, 750 μ l dan 1000 μ l. Setelah masing-masing wadah kosong terisi, diteteskan DMSO 10% setiap wadah yang sudah diisi sebanyak 250 μ l, 750 μ l, dan wadah kosong untuk kontrol negatif hingga terisi 1000 μ l. Langkah selanjutnya yaitu homogenkan larutan dengan meletakkan kertas cakram selama 15 menit. Hasil pengenceran madu dapat dilihat pada (tabel 1).

Tabel 1. Pengenceran madu putih sumbawa

Madu Putih	Pelarut (DMSO)	Hasil Konsentrasi
250 μ l	750 μ l	25%
750 μ l	250 μ l	75%
1000 μ l	-	100%

Uji fitokimia

Fitokimia adalah ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi zat kimia yang terdapat dalam metabolit sekunder tanaman (Julianto 2019). Metabolit sekunder membantu tanaman mempertahankan diri terhadap predator, pesaing, dan penyakit, serta menarik serangga untuk membantu penyerbukan dan menghasilkan madu. Skrining fitokimia madu putih Sumbawa meliputi beberapa reaksi yang akan diuji. Reaksi yang akan diuji terdiri dari senyawa tanin dan flavonoid yang bereaksi terhadap warna, uji senyawa alkaloid yang bereaksi terhadap pengendapan, serta uji senyawa saponin yang akan membentuk busa (Zahra et al., 2021)

Uji antibakteri madu

Uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Mataram. Tahapan persiapan dari uji antibakteri meliputi peremajaan bakteri, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan cakram kertras, persiapan kontrol negatif, kontrol positif. Tahapan awal untuk melakukan uji antibakteri adalah melakukan suspensi bakteri dengan mengambil satu ujung koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan ose steril kemudian disuspensikan ke dalam larutan NaCl steril. Tahapan selanjutnya yaitu dilakukan pembuatan larutan standar *McFarland* 0,5 yang akan dibandingkan dengan larutan NaCl. Bakteri yang sudah disuspensi dalam larutan NaCl selanjutnya diambil dengan cara mencelupkan kapas swab steril, selanjutnya kapas diputar beberapa kali dan ditekan dengan mengarahkan ke dinding tabung agar cairan tidak menetes.

Tahap selanjutnya dilakukan swab pada permukaan media *Muller Hinton Agar* (MHA) secara menyeluruh dan didiamkan selama 10 menit dengan tujuan untuk suspensi bakteri meresap menyeluruh ke dalam media MHA. Tahapan selanjutnya lakukan perendaman kertas cakram kedalam tempat yang berisikan madu, kontrol positif (chloramphenicol) dan negatif (DMSO) pada suhu 37°C dengan waktu 15 menit. Setelah melakukan perendaman, kertas cakram di letakkan di cawan petri bersamaan dengan media MHA dan suspensi bakteri menggunakan pinset. Tahapan selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menggunakan inkubator. Setelah melakukan berbagai tahapan, tahapan akhir adalah menghitung nilai zona hambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan penggaris dengan menghitung daerah yang berwarna bening disekitar kertas cakram. Setelah didapatkan hasil pengukuran, hasil akan dibandingkan pada setiap konsentrasi dan juga setiap kelompok control (Amalia et al., 2021).

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji organoleptik

Uji organoleptik merupakan salah satu jenis pengujian pangan yang menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk

menganalisis suatu produk pangan. Indera penglihatan (mata), penciuman (hidung), pengecap (mulut), dan peraba (tangan) merupakan beberapa indera yang dapat digunakan dalam pengujian organoleptik. Komponen yang akan dilakukan penilaian oleh panca indra meliputi, rasa, warna, aroma dan tekstur. Hasil dari uji yang menggunakan indera manusia ini yang akan menjadi suatu penilaian terhadap produk yang diuji (Gusnadi et al., 2021). uji organoleptik madu putih sumbawa dapat dilihat pada (tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji organoleptik madu putih Sumbawa

Parameter Organoleptik	Madu Putih
Aroma	Khas madu
Warna	Kuning terang
Rasa	Manis
Tekstur	Kental

Hasil uji fitokimia

Tahap pendahuluan bisa dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia memiliki fungsi untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terkandung pada sampel. Skrining fitokimia dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid/steroid pada sampel (Zahra et al., 2021). Kelompok senyawa yang akan dilakukan skrining memiliki beberapa efek biologis antara lain sebagai antioksidan. Hasil dari uji fitokimia dapat dilihat pada (tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji organoleptik madu putih Sumbawa

Parameter Fitokimia	Hasil	Keterangan
Tanin	Positif	Perubahan warna menjadi hijau tua
Flavonoid	Positif	Perubahan warna menjadi merah muda
Alkaloid	Negatif	Tidak terbentuknya endapan dari ketiga pereaksi
Saponin	Negatif	Tinggi busa <1 cm
Terpenoid atau Steroid	Positif Terpenoid	Perubahan warna menjadi kecoklatan

Hasil uji aktivitas antibakteri

Metode difusi cakram digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Luas zona penghambatan aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan metode difusi cakram. Metode ini merupakan teknik yang diterapkan dan ditetapkan oleh seluruh laboratorium mikrobiologi untuk pengujian antibakteri. Metode ini tidak secara keseluruhan bekerja terhadap semua bakteri, dilakukan standarisasi pengujian berbagai bakteri seperti *staphylococcus*, *streptococcus*, *haemophilus* dan *neisseria*. Metode ini dipilih karena memiliki manfaat yaitu keterusterangan akan hasil yang didapatkan, efektivitas biaya dan telah berkontribusi terhadap penerapannya untuk menguji antibakteri pada sebuah ekstrak tumbuhan dan obat-obatan (Hossain et al., 2022). Uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dilakukan sebanyak 5 kali yaitu konsentrasi 25%, 75%, 100%, kontrol positif dan kontrol negatif dan akan dilakukan pengulangan 5 kali untuk menemukan hasil yang terbaik. Hasil dari uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dilampirkan pada (tabel 4).

Tabel 4. Diameter zona hambat antibakteri madu putih Sumbawa terhadap *S. epidermidis*

Bahan uji (konsentrasi)	Rata-rata	Kategori
25%	0 ± 0	Tidak Ada Aktivitas
75%	2,32 ± 2,86	Resisten/Lemah
100%	6,71 ± 0,43	Resisten/Sedang
Kontrol positif	20,3 ± 20,3	Sensitif/Sangat Kuat
Kontrol negatif	0 ± 0	Tidak Ada Aktivitas

Pembahasan

Uji organoleptik

Rasa yang dihasilkan dalam uji organoleptik berasal dari pengujian menggunakan indera perasa, warna berasal dari pengujian menggunakan indera pengelihatan, aroma berasal dari pengujian menggunakan indera penciuman. Pentingnya melakukan uji organoleptik dapat dilihat dari pengujian bau yang bisa mendeteksi dari kerusakan produk madu tersebut, seperti bau busuk yang menandakan bahwa madu tersebut sudah tidak

layak produksi. Pada indikator uji warna dan aroma merupakan hasil dari asal dan jenis bunga penghasil madu tersebut, untuk warna spesifik terhadap nektar bunga. Berdasarkan warna, madu terbagi menjadi madu terang dan madu putih (Ratulangi & Halid, 2023).

Hasil uji organoleptik madu putih Sumbawa yang dilakukan penulis mendapatkan hasil yaitu aroma yang memiliki warna kuning terang, aroma khas seperti madu, rasa yang manis serta tekstur yang kental. Penyimpanan madu pada suhu 36-38° dengan kelembaban 75-78% dapat bertahan dalam rentang waktu 2-4 minggu tanpa mengalami penurunan mutu (Rahayu et al., 2021). Warna, rasa, tekstur, dan aroma madu semuanya dipengaruhi oleh jenis tanaman yang menghasilkan nektarnya. Selain sumber nektar, elemen eksternal lainnya termasuk musim, jenis atau lokasi tanah, pemrosesan, dan lama penyimpanan juga dapat memengaruhi warna, rasa, tekstur, dan cita rasa madu. Karena mineral yang tercemar oleh kontaminasi tanah dipengaruhi oleh tanah tempat tanaman tumbuh, kandungan mineral madu merupakan salah satu faktor yang memengaruhi warnanya. Adanya beberapa komponen fenolik menghasilkan warna gelap, madu dengan warna yang lebih cerah memiliki lebih banyak gula daripada madu dengan warna yang lebih gelap.

Warna gelap madu cenderung mengandung lebih banyak mineral (Evahelda et al., 2018). Penentuan warna merupakan penilaian penting untuk menentukan kualitas madu. Selain kandungan mineral, warna madu dapat berbeda tergantung asal, usia, kondisi penyimanan madu dan jumlah partikel seperti serbuk sari yang mengatur dari transparansi dan kejernihan dari madu. Penyimpanan jangka waktu relatif lama akan cenderung mengalami perubahan warna menjadi gelap (Saepudin et al., 2014). Faktor-faktor yang mempengaruhi warna dari madu dapat menghasilkan warna madu yang bervariasi seperti bening dan tidak berwarna, kuning, kuning cerah, kuning tua, warna dasar kemerahan, abu-abu, kehijauan hingga berwarna hitam (Pavlova et al., 2018)

Rasa yang muncul pada madu bervariasi dari manis, manis keasaman hingga pahit. Rasa manis dari madu dapat dipengaruhi oleh dengan kadar gula dan rasio karbohidrat yang terkandung dalam madu. Secara umum, madu dengan kandungan fruktosa yang lebih tinggi

rasanya lebih manis. Selain memberi rasa manis pada madu, kandungan gula pada madu membuatnya bersifat osmotik, yang mencegah kuman tumbuh (Puścion-Jakubik *et al.*, 2020). Selain rasa manis dan asam pada madu, madu juga memiliki rasa pahit. Zat yang menyebabkan madu dapat terasa pahit seperti glikosida, alkaloid, polifenol dan terpenoid (Pavlova *et al.*, 2018)

Zat volatil, yang merupakan molekul organik yang ditemukan dalam madu, adalah alasan mengapa pengujian aroma madu menghasilkan hasil yang biasa. Nektar dan fermentasi gula, vitamin, dan asam amino selama fase pematangan dikombinasikan dengan bahan kimia yang diproduksi oleh sel kelenjar bunga untuk memberikan aroma pada madu. Karena madu mengandung bahan kimia aromatik seperti minyak esensial dan kombinasi karbonil termasuk formaldehida, asetaldehida, propionaldehida, aseton, dan metil etil keton, aromanya dapat bervariasi. Untuk bahan kimia tambahan, ada ikatan ester seperti asam benzoat atau propionat, serta ikatan alkohol seperti propanol, etanol, butanol, isobutanol, pentanol, dan benzil alkohol. Selain itu, aroma madu memudar seiring waktu karena bahan kimia dalam madu menguap jika tidak diawetkan dengan benar (Syuhriatin, 2019).

Uji terakhir yang dilakukan yaitu uji tekstur. Kadar air dalam madu yang beradaptasi dengan kelembapan sekitar memengaruhi tekstur produk. Madu memiliki karakteristik higroskopis, atau mudah menyerap air; semakin rendah kelembapan sekitar, semakin sedikit air dalam madu. Sementara kadar air yang tinggi dapat mendorong aktivitas ragi untuk berkembang biak dan tumbuh subur dalam madu, yang mengarah pada fermentasi, kadar air yang rendah membantu menjaga kerusakan madu untuk waktu yang relatif lama (Wulandari, 2017). Peneliti menggunakan madu dengan kadar air rendah dan tekstur yang kental. Tekstur madu dipengaruhi tidak hanya oleh kadar airnya tetapi juga oleh kadar gulanya. Konsentrasi gula yang lebih tinggi dalam madu menghasilkan tekstur yang lebih kental dan meningkatkan sifat antibakterinya. Sumber nektar yang dikumpulkan lebah dapat memengaruhi jumlah gula yang ada. Ketika suhu tinggi, penguapan air akan meningkatkan jumlah gula, dan ketika kelembapan tinggi, jumlah gula akan berkurang

(Adityarini *et al.*, 2020).

Uji fitokimia

Hasil penelitian fitokimia yang dilakukan penulis terhadap madu putih Sumbawa menunjukkan adanya komponen tanin. Setelah ditambahkan 15 tetes reagen besi (III) klorida (FeCl_3) 1%, warna berubah menjadi hijau tua, yang menunjukkan hasil positif. Molekul tanin yang merupakan turunan polifenol bereaksi dengan ion Fe^{3+} menghasilkan kompleks hijau kehitaman, yang menyebabkan perubahan warna. Ion Fe^{3+} dapat membentuk kompleks hijau kehitaman karena mengalami hibridisasi (Zahra *et al.*, 2021). Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Zahra (2021) menunjukkan hasil berbeda, di mana madu *Trigona* sp. asal Lombok Utara dinyatakan negatif mengandung tanin.

Sampel madu putih Sumbawa juga menunjukkan hasil positif terhadap kandungan senyawa flavonoid. Hasil positif ini diperoleh setelah penambahan 2 tetes HCl 2 N dan 0,2 gram serbuk Mg, yang menyebabkan perubahan warna menjadi merah muda. Perubahan warna tersebut, baik menjadi merah muda maupun jingga, disebabkan oleh kelompok senyawa flavonoid, seperti flavonol, flavanon, flavanolol, dan xanton (Zahra *et al.*, 2021). Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Fadhma (2015) menunjukkan hasil berbeda, di mana madu Seulawah tidak mengandung flavonoid, yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna menjadi merah muda dalam uji fitokimia.

Tiga pereaksi yaitu Mayer, Dragendorff, dan Wagner digunakan dalam prosedur presipitasi untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid. Jika reagen Mayer menghasilkan endapan putih, sampel dianggap mengandung alkaloid. Bila terbentuk endapan coklat hingga kuning dengan reagen Wagner, hal itu menunjukkan reaksi positif, tetapi endapan jingga hingga coklat kemerahan menunjukkan reaksi positif dengan reagen Dragendorff. Adanya pasangan elektron bebas dari atom nitrogen yang dapat menggantikan ion iodin (logam) dalam reagen inilah yang menyebabkan terjadinya presipitasi pada senyawa alkaloid. Senyawa identifikasi alkaloid dilakukan dengan metode presipitasi menggunakan tiga pereaksi, yaitu Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Bila endapan putih dipengaruhi oleh pereaksi Mayer,

sampel dikatakan mengandung alkaloid.

Positifnya, pengendapan jingga yang bergantung pada merah kecokelatan merupakan ciri pereaksi Dragendorff, sedangkan pengendapan cokelat yang bergantung pada kuning merupakan ciri pereaksi Wagner. Pengendapan senyawa alkaloid disebabkan oleh adanya elektron bebas dari atom nitrogen yang dapat melawan ion iodium (logam) selama reaksi. Hasil uji organoleptik yang dilakukan penulis, hasil menunjukkan tidak adanya kandungan alkaloid pada sampel madu putih Sumbawa, karena tidak terbentuk endapan pada ketiga pereaksi (Zahra *et al.*, 2021). Selain perbedaan hasil pada kandungan senyawa tanin, penelitian Zahra (2021) juga menunjukkan perbedaan pada kandungan senyawa alkaloid. Madu dinyatakan mengandung senyawa alkaloid apabila dua dari tiga pereaksi yang digunakan membentuk endapan saat pengujian.

Hasil identifikasi senyawa saponin menunjukkan hasil negatif karena busa yang terbentuk memiliki tinggi kurang dari 1 cm. Busa yang muncul saat larutan dikocok dengan air berasal dari dua gugus yang dimiliki oleh saponin. Sementara gugus steroid dan triterpenoid menghadap ke dalam sebagai komponen nonpolar, gugus glikosil menghadap ke luar sebagai komponen polar. Kedua gugus ini menghasilkan busa karena bersifat aktif di permukaan (Zahra *et al.*, 2021). Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Nasution (2023), pada madu hutan Trumon yang berasal dari Aceh, ditemukan bahwa madu tersebut mengandung saponin. Dalam penelitian tersebut, saat dilakukan uji fitokimia pada senyawa saponin, terbentuk busa dengan tinggi lebih dari 1 cm. Perbedaan hasil dari beberapa madu disebabkan oleh beberapa faktor. Spesies, sumber makanan dan letak geografis dari madu maupun lebah dapat dikatakan sebagai faktor pembeda. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda pada setiap madu merupakan ciri khas yang membedakan setiap jenis madu (Handayani, 2022)

Uji aktivitas antibakteri

Terbentuknya zona hambat menunjukkan kemampuan dari madu putih dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Terdapat berbagai kategori yang dapat digunakan untuk membagi hasil zona inhibisi. Empat kategori digunakan untuk

mengklasifikasikan zona inhibisi antibakteri: aktivitas lemah (kurang dari 5 mm), aktivitas sedang (5–10 mm), aktivitas kuat (>10–20 mm), dan aktivitas sangat kuat (>20–30 mm) (Fiana *et al.*, 2020). Sementara itu, zona inhibisi dibagi menjadi tiga kelompok oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): sensitif > 18 mm, sedang 13–17 mm, dan resisten \leq 12 mm (Watts *et al.*, n.d.). Hasil dari konsentrasi 25% dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambat. Untuk konsentrasi 75%, 100% dan kontrol positif terbentuk zona hambat pada masing-masing konsentrasi dan kontrol.

Konsentrasi 75% terdapat diameter zona hambat sebesar 2,32 mm yang artinya terdapat aktivitas antibakteri dengan kategori lemah/resisten. Sedangkan pada konsentrasi 100% terdapat diameter zona hambat sebesar 6,71 mm yang memiliki arti terdapat aktivitas antibakteri dengan kategori resisten menurut CLSI dan sedang. Diameter zona penghambatan yang sensitif/sangat kuat untuk kontrol positif kloramfenikol tampaknya adalah 20,3 mm. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram digunakan untuk menghitung diameter zona penghambatan. Dalam uji aktivitas antibakteri, terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri dalam media agar ditekan.

Penelitian ini didukung oleh penelitian Huda *et al.*, (2013) madu bunga Hutan Musi Rawas. Penelitian tersebut, konsentrasi yang lebih rendah akan membentuk zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi lebih tinggi. Hal tersebut diakibatkan oleh kadar antibakteri yang dikandung pada konsentrasi lebih tinggi akan semakin besar kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri dibandingkan konsentrasi rendah (Lingga *et al.*, 2016). Hal lainnya yang mengakibatkan perbedaan zona hambat adalah kecepatan difusi. Perbedaan zat pelarut dan terlarut pada setiap konsentrasi dapat mempengaruhi kecepatan difusi tersebut. Jumlah pelarut pada konsentrasi rendah lebih banyak dibandingkan zat terlarut, sedangkan pada konsentrasi tinggi perbedaan antara zat pelarut dan terlarut membuat kerapatan molekul antar senyawa antibakteri tinggi sehingga berfungsi lebih dibandingkan konsentrasi rendah (Pattipeilohy *et al.*, 2022).

Penelitian ini didukung Yuliati (2017) didapatkan hasil pada madu memiliki aktivitas

antibakteri pada bakteri gram positif dengan membentuk zona hambat yang masuk kategori sedang karena dipengaruhi oleh struktur dari bakteri. Perbedaan struktur dari bakteri gram positif dan gram negatif memiliki perbedaan yang memberikan hasil yang berbeda dalam pembentukan zona hambat. Bakteri gram positif dapat mempertahankan zat utama karena dinding sel gram positif mengandung peptidoglikan yang tebal (Andrianto et al., 2022). Bakteri gram positif memiliki dinding peptidoglikan yang kuat, tetapi tidak seperti bakteri gram negatif, bakteri ini tidak memiliki lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida (Karimela et al., 2018). Struktur dinding sel bakteri tiga lapis pada bakteri gram negatif dicirikan oleh kandungan lipid yang lebih tinggi. Hal ini dapat mempersulit bakteri gram negatif untuk menyerap bahan aktif madu, sehingga menghasilkan zona penghambatan yang lebih kecil dibandingkan pada bakteri gram positif (Yuliati, 2017)

Terbentuknya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kualitas madu, kandungan madu dan bentuk dari dinding sel bakteri. Madu sebagai antibakteri berpengaruh pada zona hambat yang dihasilkan karena sifat fisikokimia pada madu seperti pH, keasaman, kadar air, jenis madu dan kandungan zat antibiotik efektif pada melawan berbagai bakteri. Konsentrasi air yang rendah, kandungan gula yang tinggi, senyawa radikal *hidrogen peroksida*, keasaman yang tinggi dan agen antimikroba organik berperan pada aktivitas antibakteri pada madu. Konsentrasi air yang rendah berperan dalam membunuh pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme lainnya. Kadar gula yang tinggi menekan pertumbuhan dari bakteri sehingga bakteri kesulitan untuk tumbuh dan berkembang biak. Radikal hidrogen peroksida berperan untuk membunuh mikroorganisme patogen. Keasaman yang tinggi pada madu mampu menurunkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup dari bakteri. Polifenol, flavonoid dan glikosida sebagai agen antimikroba organik berperan penting juga dalam membunuh bakteri (Almasaudi, 2021; Ratulangi & Halid, 2023)

Hasil fitokimia madu berpengaruh dalam aktivitas antibakteri. Pada penelitian ini didapatkan madu positif mengandung tanin, flavonoid dan terpenoid, hal tersebut dapat dilihat pada tabel 5.2. Tanin memiliki manfaat

pada aktivitas antibakteri, hal ini dibuktikan dengan antibakteri pada tanin dalam mempresipitasikan protein. Tanin berfungsi pada aktivitas antibakteri sebagai inaktivasi enzim, proses reaksi pada membrane sel, dan penghambatan fungsi materi genetic bakteri atau destruksi. Secara *in vitro*, tanin menghambat suatu DNA topoisomerase dan pada enzim penyebab tidak terbentuknya sel pada bakteri yaitu enzim reverse transkriptase. Selain itu, tanin efektif dalam menonaktifkan enzim, mencegah menempelnya bakteri, dan mengganggu pergerakan protein melintasi lapisan di dalam sel (Sunani & Hendriani, 2023).

Flavonoid memiliki tiga jenis aktivitas antibakteri: menghambat pembentukan asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, dan menghambat konsumsi energi. Mekanisme flavonoid untuk menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B pada senyawa flavonoid berperan untuk proses ikatan hydrogen yaitu menumpuk asam basa nukleat yang nantinya akan menghambat pembentukan DNA dan RNA dari bakteri. Sedangkan pada fungsi flavonoid untuk menghambat fungsi membrane sel, flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut yang akan mengakibatkan membrane sel akan lisis dan senyawa intraseluler akan keluar. Fungsi flavonoid untuk menghambat metabolisme energi, oksigen pada bakteri akan terhambat oleh flavonoid dengan cara mencegah pembentukan energi pada membrane sitoplasma dan menghambat pergerakan bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler (Rakasari et al., 2019)

Terpenoid memiliki manfaat dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri. Mekanisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara pemecahan membrane yang melibatkan komponen-komponen lipofilik. Membran luar sel bakteri yang mengandung porin atau protein transmembrane dari bakteri akan dirusak oleh terpenoid yang akan mengakibatkan terganggunya permeabilitas dinding sel dan nutrisi dari bakteri akan menurun hingga menyebabkan sel bakteri mati.

Kesimpulan

Madu salah satu bahan alami yang bisa digunakan sebagai antibakteri karena kandungan

yang dimiliki. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dapat dihambat oleh kandungan yang dimiliki madu. Dalam uji fitokimia madu didapatkan hasil madu positif mengandung tanin flavonoid dan terpenoid dan hasil negatif pada saponin dan alkaloid yang memiliki peranan penting untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Terbukti dari hasil aktivitas antibakteri pada beberapa konsentrasi hampir penuh dan penuh dapat terbentuk zona hambat yang masuk dalam kategori resisten/lemah dan resisten/ sedang dan konsentrasi terendah tidak terbentuk zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi dari antibakteri semakin tinggi juga kemampuannya untuk menghambat bakteri

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram.

Referensi

- Adalina, Y (2017, June 1). *Kualitas madu putih asal Provinsi Nusa Tenggara Barat*. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m030204>
- Adityarini, D., Suedy, S., & Darmanti, S. (2020). Kualitas Madu Lokal Berdasarkan Kadar Air, Gula Total dan Keasaman dari Kabupaten Magelang. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi, Ejournal UNDIP*, 5(1).
- Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. In *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 28, Issue 4, pp. 2188–2196). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- Amalia Agatha Sari, Z., Febriawan, R., Author, C., Studi Pendidikan Dokter, P., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2021). Perbedaan hasil uji aktivitas antibakteri metode well diffusion dan kirby bauer terhadap pertumbuhan bakteri. <http://jurnalmedikahutama.com>
- Andrianto, M., Sulsia Ista', N., Ningtyas, I., Laili, A., & Agustin, D. (2022). Isolasi bakteri gram positif pada madu liar sumbawa Isolation Of Gram Positive

Bacteria In Sumbawa Wild Honey. *Mandalika Veterinary Journal*, 2(2), 2798–8732.

<https://doi.org/10.33394/MVJ.VII2.2021.1-6>

- Brown, M. M., & Horswill, A. R. (2020). *Staphylococcus epidermidis*-Skin friend or foe? *PLoS Pathogens*, 16(11). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1009026>

- Evahelda, E., Pratama, F., & Santoso, B. (2018). Sifat Fisik dan Kimia Madu dari Nektar Pohon Karet di Kabupaten Bangka Tengah, Indonesia. *Agritech*, 37(4), 363. <https://doi.org/10.22146/agritech.16424>

- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10–20. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10108>

- Fišarová, L., Botka, T., Du, X., Mašlačňová, I., Bárđy, P., Pantůček, R., Benešík, M., Roudnický, P., Winstel, V., Larsen, J., Rosenstein, R., Peschel, A., & Doškař, J. (2021). *Staphylococcus epidermidis* Phages Transduce Antimicrobial Resistance Plasmids and Mobilize Chromosomal Islands. *MSphere*, 6(3). <https://doi.org/10.1128/msphere.00223-21>

- Handayani, T. H. (2022). Aktivitas Antioksidan, Total Fenolik, dan Total Flavonoid Madu Apis mellifera dari Hutan Akasia (*Accacia crassicarpa*) Riau, Indonesia dengan Beberapa Perlakuan Pengeringan. *Jurnal Biologi Indonesia*, 18(2), 231–243. <https://doi.org/10.47349/jbi/18022022/231>

- Hossain, M. L., Lim, L. Y., Hammer, K., Hettiarachchi, D., & Locher, C. (2022). A Review of Commonly Used Methodologies for Assessing the Antibacterial Activity of Honey and Honey Products. In *Antibiotics* (Vol. 11, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070975>

- Huda, M., Kesehatan, J. A., Kesehatan, P., Tanjungkarang, K., Kunci:, K., Hutan, M., Rawas, M., & Hambat, Z. (2013).

- Pengaruh Madu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus Aureus*) Dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia Coli*) Effect On The Growth Of Honey gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*). In *Jurnal Analisis Kesehatan* (Vol. 2, Issue 2). Hidayat, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak air bunga kecombrang terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* sebagai bahan pangan fungsional. *Al-Kauniyah Jurnal Biologi*, 7(1).
- Jubeih, B., Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25122888>
- Jurnal, H., Bidara, C., Umar, P., Tinggi, S., Kesehatan, I., Husada, M., & Niwelle, A. (2022). Jurnal pengabdian ilmu kesehatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. 2(2).
- Karimela, E., Ijong, F., Palawe, J., & Mandeno, J. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri staphylococcus epidermis pada ikan asap pinekuhe. *Jurnal Teknologi Perikanan Dan Kelautan*, 9(1), 35–42.
- Lerch, M. F., Schoenfelder, S. M. K., Marincola, G., Wencker, F. D. R., Eckart, M., Förstner, K. U., Sharma, C. M., Thormann, K. M., Kucklick, M., Engelmann, S., & Ziebuhr, W. (2019). A non-coding RNA from the intercellular adhesion (*ica*) locus of *Staphylococcus epidermidis* controls polysaccharide intercellular adhesion (PIA)-mediated biofilm formation. *Molecular Microbiology*, 111(6), 1571–1591. <https://doi.org/10.1111/mmi.14238>
- Lingga, A. R., Pato, U., Rossi, E., Teknologi, J., & Fakultas, P. (2016). Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* antibacterial test of kecombrang (*Nicolaia Speciosa* Horan) stem extract againts *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*. In *JOM Faperta* (Vol. 3, Issue 1).
- Lumbantobing, H., Sartini, S., & Rahmiati, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) dan Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 4(1), 18–26. <https://doi.org/10.31289/jibioma.v1i1.1226>
- Manguntungi, B., Mustopa, A. Z., Meilina, L., Nurfatwa, M., Vanggy, L. R., Irawan, S., Tamzil, M. S., Aprilian, T., Yulianti, Fidduha, A. S., & Wersian, I. N. (2021a). The profile analysis of lactic acid bacteria (Lab) from sumbawa white honey and its potential producing antibacterial compounds. *Walailak Journal of Science and Technology*, 18(15). <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.22204>
- Manguntungi, B., Mustopa, A. Z., Meilina, L., Nurfatwa, M., Vanggy, L. R., Irawan, S., Tamzil, M. S., Aprilian, T., Yulianti, Fidduha, A. S., & Wersian, I. N. (2021b). The profile analysis of lactic acid bacteria (Lab) from sumbawa white honey and its potential producing antibacterial compounds. *Walailak Journal of Science and Technology*, 18(15). <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.22204>
- Otto, M. (2012). Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. In *Seminars in Immunopathology* (Vol. 34, Issue 2, pp. 201–214). <https://doi.org/10.1007/s00281-011-0296-2>
- Pattipeilohy, A., Umar, C., & Pattilouw, M. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tapak dara (*Catharantus roseus*) di desa lisabata terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi agar. *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1).
- Pavlova, T., Dimov, I., & Nakov, G. (2018). Quality characteristics of honey: a review. *Proceedings of university of ruse*, 57.
- Penelitian, J. I., Dendi Gusnadi, O., Taufiq, R., & Baharta, E. (2021). Uji oranoleptik dan daya terima pada produk mousse berbasis

- tapai singkong sebagai komoditi umkm di kabupaten bandung. *I*(12), 2883.
- Puścion-Jakubik, A., Borawska, M. H., & Socha, K. (2020). Modern methods for assessing the quality of Bee Honey and botanical origin identification. In *Foods* (Vol. 9, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods9081028>
- Putu Risky Vidika Apriyanthi, D., Saka Laksmita, A. W., & Putu Widayanti, N. (n.d.). Bioma : jurnal biologi makassar (on line) identifikasi bakteri kontaminan pada gelang tri datu identification of contaminant bacteria on tri datu bracelet. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/biom>
- Rahayu, I. E., Kurnyawaty, N., Wijayanti, A., & Bastomy, I. (2021). Examine the quality of honey in the Tahura Lati Petangis area as an effort to increase market value. *Community Empowerment*, 6(9), 1701–1708. <https://doi.org/10.31603/ce.5969>
- Rakasari, M., Selamat, A., & Ayu, K. (2019). Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2).
- Ratulangi, W. R., & Halid, M. (2023). *Quality Analysis Based on Organoleptic Properties, Water Content, and Total Reducing Sugars Content in the Raw Honey (Apis dorsata) and Processed Honey*. <https://doi.org/10.33086/jhs.v16.i01.3091>
- Saepudin, R., Saputra, B., & Sutriyono. (2014). Kualitas Madu yang Beredar Di Kota Bengkulu Berdasarkan Penilaian Konsumen dan Uji Secara Empirik. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 9.
- Shabur Julianto, T. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*.
- Siregar, A., Sabdon, A., & Pringgenies, D. (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus* Angelina. *Bulletin de La Federation Des Societes de Gynecologie et Obstetrique de Langue Francaise*, 1(2), 152–160.
- Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). *Indonesian Journal of Biological Pharmacy Review Article: Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Tannins*. <https://jurnal.unpad.ac.id/ijbp>
- Teknologi Perikanan dan Kelautan, J., John Karimela, E., Ijong, F. G., Palawe, J. F., Mandeno, J. A., Perikanan dan Kebaharian, J., Negeri Nusa Utara, P., Perikanan dan Ilmu Kelautan, F., & Sam Ratulangi, U. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri *staphylococcus epidermis* pada ikan asap pinekuhe isolation and identification of *staphylococcus epidermis* bacteria in pinekuhe smoked fish. In *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan* (Vol. 9, Issue 1).
- Watts, J. L., Shryock, T. R., Apley, M., Bade, D. J., Brown, S. D., Gray, J. T., Heine, H., Hunter, R. P., Mevius, D. J., Papich, M. G., Silley, P., & Zurenko, G. E. (n.d.). *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard-Third Edition Volume 28 Number 8 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard-Third Edition*.
- Wulandari, D. (2017). Kualitas madu (keasaman, kadar air, dan kadar gula pereduksi) berdasarkan perbedaan suhu penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1).
- Yuliati. (n.d.). Uji efektivitas larutan madu sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode disk diffusion.
- Zahra, N. N., Muliastari, H., Andayani, Y., & Sudarma, I. M. (2021a). Karakteristik fisikokimia ekstrak madu dan propolis trigona sp. Asal lombok utara Article Information. In *Jurnal AGROTEK UMMAT* (Vol. 8, Issue 1).
- Zahra, N. N., Muliastari, H., Andayani, Y., & Sudarma, I. M. (2021b). Karakteristik fisikokimia ekstrak madu dan propolis trigona sp. Asal lombok utara Article Information. In *Jurnal AGROTEK UMMAT* (Vol. 8, Issue 1).