

JURNAL BIOLEUSER

ISSN: 2597-6753

<http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/bioleuser>

Uji aktivitas Madu Seulawah sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Fadhil Malik¹, Suryawati², Wilda Mahdani³, Hijra Novia Suardi²

¹Jurusan Pendidikan Dokter, FK, Universitas Syiah Kuala, Jl. Tgk Syeck Abdurrauf No. 7 Darussalam, Banda Aceh 23111

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, Darussalam Banda Aceh 23111

³Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, Darussalam Banda Aceh 23111

INFO ARTIKEL

* Penulis koresponden
email: fadhil.malik13@gmail.com

Kata kunci:

Madu Seulawah
Pseudomonas aeruginosa
Antibakteri

ABSTRAK

Pseudomonas aeruginosa memiliki berbagai faktor virulensi yang berfungsi untuk menghindari dari sistem pertahanan tubuh manusia, membentuk koloni dan menimbulkan penyakit infeksi. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk patogen yang sulit diobati. Resistensinya terhadap beberapa antibiotik seringkali menyebabkan kegagalan pengobatan sehingga sering dikaitkan dengan penyebab utama kematian. Pengobatan dari bahan alam dinilai memiliki efek samping yang minimal dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia. Salah satu bahan alami yang memiliki kandungan sebagai antibakteri ialah madu. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu Seulawah terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* digunakan metode difusi cakram. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap yang terdiri dari enam kelompok perlakuan dan empat kali pengulangan. Kelompok perlakuan menggunakan akuades sebagai kontrol negatif, seftazidim 30µg sebagai kontrol positif, dan madu Seulawah dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Data penelitian dianalisis menggunakan analisis komparasi. Hasil penelitian ini menunjukkan madu Seulawah dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki rata-rata daya hambat pada masing-masing konsentrasi sebesar 6,89 mm, 7,23 mm, 7,45 mm, dan 7,54 mm. Berdasarkan kriteria Morales, daya hambat madu Seulawah terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* tergolong hambatan yang lemah. Uji statistik menunjukkan *mean rank* pada konsentrasi 75% dan 100% memiliki kesamaan ranking sehingga tidak ada konsentrasi optimum madu Seulawah yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords:

Seulawah honey
Pseudomonas aeruginosa
Antibacterial

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa has various virulence factors which function to avoid the human body's defense system, form colonies and cause infectious diseases. *Pseudomonas aeruginosa* is one of the including pathogens that are difficult to treat. Its resistance to several antibiotics often cause treatment failure which associated with the main cause of death. Treatment from natural ingredients is considered to have minimal side effects compared to drugs derived from chemicals. One of the natural ingredients that has antibacterial properties is honey. To find out the antibacterial activity of Seulawah honey on the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, a disk diffusion method was used. This research is an experimental study using a complete randomized design method consisting of six treatment groups and four repetitions. The treatment groups used aquadest as a negative control, ceftazidime 30µg as a positive control, and Seulawah honey with respective concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. Research data were analyzed using comparative analysis. The results of this study showed Seulawah honey with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% had average of inhibition power in the amount of 6.89 mm, 7.23 mm, 7.45 mm, and 7.54 mm on the respective concentrations. Based on Morales criteria, the inhibitory power of honey to *Pseudomonas aeruginosa* growth is relatively week. Statistical test shows the mean rank at a concentration of 75% and 100% have the same ranking so that there is no optimum concentration of Seulawah honey which is the most effective in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa*.

1. PENDAHULUAN

Pseudomonas aeruginosa termasuk patogen yang sulit diobati, resistensinya terhadap beberapa antibiotik seringkali menyebabkan kegagalan pengobatan sehingga sering dikaitkan dengan penyebab utama kematian.(Ekawati, et al., 2018) *Pseudomonas aeruginosa*

telah diketahui memiliki berbagai faktor virulensi seperti flagella dan pili (tipe IV), lipopolisakarida, siderofor (pioselin, pyoverdin), fenazin (piosianin), enzim elastase dan protease, hemolisin (fosfolipase C tidak tahan panas dan glikolipid tahan panas),

eksotoksin A, eksoenzim (ExoS, ExoT, ExoU dan ExoY), sistem sekresi tipe 3, alginat, *Quorum Sensing* (QS), dan pembentukan biofilm. (Azam *et al.*, 2019; Dzovva *et al.*, 2016)

Pseudomonas aeruginosa memiliki berbagai faktor virulensi yang berfungsi untuk menghindari dari sistem pertahanan tubuh *host*, membentuk koloni dan menimbulkan penyakit infeksi. *Pseudomonas aeruginosa* yang telah resisten ditemukan paling banyak dari hasil spesimen pus (70,2%) dan 6,6% diantaranya dilaporkan telah resisten terhadap semua jenis antibiotik yang diujikan seperti meropenem, piperasilin/tazobaktam, sefepim, gentamisin, aztreonam, seftazidim dan sefalosporin (Anggraini *et al*, 2018).

Penggunaan obat tradisional dari bahan alam mampu menjadi pengobatan alternatif karena dinilai memiliki efek samping yang minimal dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia. Salah satu bahan alami yang memiliki kandungan sebagai antibakteri ialah madu (Prestanti, *et al*, 2018). Kandungan madu yang memiliki kemampuan antibakteri dipengaruhi oleh hidrogen peroksida sebagai kontributor utama, komponen fenolat, keasaman/pH, osmolaritas yang tinggi, dan senyawa metabolit sekunder seperti, saponin, terpenoid, dan flavonoid (Fadhmi, 2015; Indriani *et al* 2015). Penggunaan madu sebagai antibakteri sampai saat ini belum menghasilkan *strain* bakteri yang resisten. Hal ini mungkin dikarenakan sifat antibakteri madu yang multifaktorial dan mempengaruhi berbagai situs target (Putri *et al*. 2017)

Hutan Seulawah merupakan salah satu hutan penghasil madu yang berada di Provinsi Aceh (Fadhmi, 2015). Madu hutan yang dihasilkan oleh lebah liar seringkali dimanfaatkan secara langsung oleh masyarakat di sekitar kawasan hutan. Masyarakat meyakini bahwa madu memiliki khasiat dalam mengobati berbagai macam penyakit termasuk penyakit infeksi (Sholihah, 2013). Hal ini juga sejalan dengan firman Allah dalam Q.S An-Nahl: 68-69 yang menjelaskan bahwa madu dapat digunakan sebagai obat bagi manusia (Hammad, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu Seulawah dan mengetahui konsentrasi optimum madu Seulawah yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unsyiah pada bulan September hingga November 2019. Penelitian ini menggunakan madu Seulawah yang diambil dari hutan Gunung Seulawah, Saree, Kabupaten Aceh Besar dan bakteri uji yang digunakan ialah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental laboratorik* dengan desain *postest only control group design*. Rancangan percobaan yang digunakan ialah dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada penelitian ini kelompok perlakuan diberikan madu Seulawah dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, sedangkan kelompok kontrol menggunakan akuades sebagai kontrol negatif dan seftazidim 30µg sebagai kontrol positif. Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

Madu Seulawah dilakukan uji fitokimia terlebih dahulu untuk menilai komponen yang mendukung sifat antibakteri pada madu Seulawah. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diidentifikasi ulang dengan pemeriksaan kultur bakteri, pewarnaan Gram, uji IMViC, dan tes oksidase sehingga bakteri yang digunakan dipastikan telah sesuai. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram.

Parameter yang diamati ialah diameter zona hambat madu Seulawah terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Hasil pengukuran diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan untuk menilai adanya perbedaan yang nyata dari setiap perlakuan digunakan uji *Mann-Whitney*

3. HASIL

Pada uji reidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan pemeriksaan berupa kultur bakteri, pewarnaan Gram, uji IMViC, dan tes oksidase. Tabel 1 menyajikan hasil reidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 1. Hasil Re-identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Uji Re-identifikasi	Hasil Uji
Media MCA	Koloni tidak berwarna
	Koloni
Media PCA	menghasilkan pigmen hijau
	Gram negatif
Pewarnaan Gram	berbentuk basil
	Negatif
IMViC	Negatif
	Negatif
Oksidase	Positif
	Positif

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam madu Seulawah. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa madu Seulawah mengandung senyawa metabolit sekunder seperti steroid, saponin, flavonoid, fenol dan tanin (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Madu Seulawah

Kandungan Kimia	Reagen	Hasil Uji	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
	Wagner	-	Tidak terbentuk endapan coklat
	Dragendorff	-	Tidak terbentuk endapan merah
Steroid	Uji Liebermann-Burchard	+	Hijau atau Biru
	Uji Liebermann-Burchard	-	Tidak terbentuk warna merah
Saponin	Akuades	+	Berbusa
Flavonoid	Mg dan HCl	+	Merah jingga
Tanin dan Senyawa Fenol	FeCl ₃	+	Hijau kehitaman

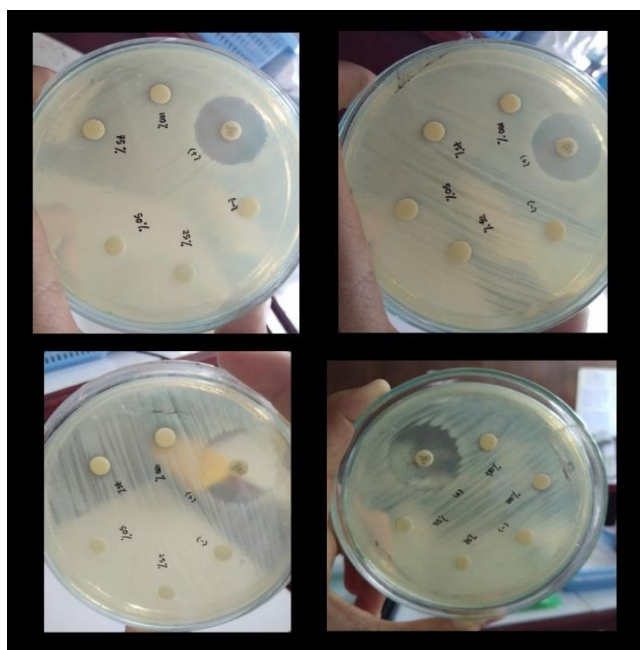
Hasil pengukuran diameter zona hambat madu Seulawah terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* disajikan pada tabel dibawah ini (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

No.	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-Rata Diameter Zona Hambat
	I	II	III	IV	
P ₀	0	0	0	0	0,00 ^a
P ₁	6.65	6.95	6.95	7	6.89 ^b
P ₂	7.90	7.10	6.80	7.10	7.23
P ₃	7.95	7.90	6.75	7.20	7.45
P ₄	7.80	7.80	7.55	7	7.54
P ₅	23.55	22.95	25.45	26.45	24.6 ^c

Keterangan:

P₀ : Kontrol negatif (akuades). P₁ : Madu Seulawah dengan konsentrasi 25%. P₂ : Madu Seulawah dengan konsentrasi 50%. P₃ : Madu Seulawah dengan konsentrasi 75%. P₄ : Madu Seulawah dengan konsentrasi 100%. P₅ : Kontrol positif (seftazidim 30 µg). ^a : p<0,05 vs P1-P4. ^b : p<0,05 vs P4. ^c : Tidak dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

4. PEMBAHASAN

Hasil kultur bakteri pada medium *MacConkey Agar* (MCA) menunjukkan koloni yang tidak berwarna dikarenakan bakteri ini tidak memfermentasi laktosa, sedangkan pada medium *Pseudomonas Citrimide Agar* (PCA) tampak adanya warna kehijauan pada media akibat pigmen pioverdin yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Staf Pengajar FK UI, 2010)

Hasil pewarnaan Gram pada sampel bakteri tampak warna merah dengan bentuk basil yang menunjukkan bakteri yang digunakan adalah bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif akan kehilangan zat warna ungunya. Penambahan zat warna safranin sebagai pewarna kontras (*counter-stain*) dapat membuat safranin tersebut masuk ke dalam sel bakteri Gram negatif dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah. (Staf Pengajar FK UI, 2010)

Uji indol dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi asam amino tryptophan dengan menggunakan enzim tryptophanase dan pada akhirnya menghasilkan produk indol. Hasil negatif didapatkan dikarenakan bakteri ini tidak dapat menghasilkan enzim tryptophanase, sehingga akan tampak lapisan reagen berwarna kuning (Rahayu dan Gumilar, 2017)

Uji *Methyl Red* (MR) menunjukan hasil negatif setelah pemberian indikator *methyl red* yang ditandai dengan perubahan

warna menjadi warna kuning. Hal ini dapat terjadi dikarenakan bakteri ini tidak dapat menghasilkan produk asam dari hasil fermentasi glukosa sehingga pH media tidak menjadi lebih rendah. Pada uji *Voger Proskauer* (VP) didapatkan hasil negatif dengan perubahan warna pada media menjadi kuning-kecokelatan setelah penambahan reagen *alpha-naphthol* dan *potassium hydroxide*. Hasil yang negatif menunjukkan bakteri ini tidak dapat menghasilkan produk yang bersifat netral seperti *acetoin* sebagai produk akhir dari metabolisme glukosa (Bengi *et al.*, 2017).

Pada pengamatan hasil uji sitrat didapatkan perubahan warna media biakan dari hijau menjadi biru yang menandakan uji sitrat positif. Hal ini dapat terjadi ketika bakteri ini mampu menggunakan sitrat menjadi sumber karbon untuk menghasilkan energi (Rahayu dan Gumilar, 2017).

Hasil pengamatan uji oksidase tampak warna ungu tua atau biru kehitaman pada strip yang mengandung reagen *tetramethyl-D-phenylenediamine dihydrochloride* 1% yang menandakan hasil uji oksidase adalah positif. Hasil uji oksidase yang positif menunjukkan bahwa bakteri ini dapat memproduksi enzim sitokrom oksidase (Staf Pengajar FK UI, 2010).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam madu Seulawah merupakan senyawa yang memiliki sifat antibakteri. Dalam mekanisme penghambatan bakteri, adanya kandungan metabolit sekunder menjadi faktor penting (Ngajow, *et al.*, 2013).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah dengan menginaktivkan adhesi sel mikroba, menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin mampu menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga bakteri akan mati (Ngajow, *et al.*, 2013).

Saponin dapat mengganggu dan mengurangi kestabilan sel dengan cara berdifusi melalui membran luar dan dinding sel bakteri kemudian mengikat membran sitoplasma hingga sitoplasma bocor keluar dari sel dan mengakibatkan kematian sel bakteri. Saponin juga mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka ketika tegangan dinding sel terganggu zat antibakteri dapat dengan mudahnya masuk ke dalam sel sehingga mengganggu metabolisme dan bakteri akan mati (Ngazizah *et al.*, 2017; Heni *et al.*, 2015).

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk merusak dinding sel yang terdiri dari lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Sifat antibakteri flavonoid mampu mendenaturasi protein sel bakteri, merusak membran sel hingga terbentuk koagulasi protein yang mengakibatkan terganggunya metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Hal ini dapat terjadi ketika senyawa flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein mengalami kerusakan serta tidak dapat berfungsi kembali (Heni *et al.*, 2015).

Senyawa fenol dapat mengganggu dinding dan membran sel, mengendapkan protein dan menonaktifkan enzim-enzim. Fenol dapat berinteraksi dengan protein membentuk suatu ikatan yang lemah dan segera akan mengalami peruraian. Fenol yang bebas dapat berpenetrasi ke dalam sel bakteri, menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Koagulasi protein yang terbentuk dapat menyebabkan lisisnya membran sel sehingga metabolit esensial yang dibutuhkan akan keluar dari sel dan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel hingga sel dapat mati ((Ngazizah *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri madu Seulawah terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* terlihat adanya zona bening di sekitar cakram yang menandakan madu Seulawah memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil uji *Kruskal wallis* menunjukkan nilai p<0,05 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil uji. Jika dilihat berdasarkan *mean rank* yang merupakan output dari uji *Kruskal-Wallis* maka pada konsentrasi 75% dan 100% memiliki kesamaan ranking sehingga tidak ada konsentrasi optimum yang paling efektif.

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji *Mann-Whitney* terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan madu Seulawah baik konsentrasi 25%, 50%, 75%, maupun 100%. Konsentrasi 100% memiliki rata-rata daya hambat tertinggi dan berbeda signifikan dengan kelompok konsentrasi 25%.

Menurut Morales, kekuatan daya hambat antibakteri dibagi menjadi tiga kategori, yaitu hambatan lemah (6-10 mm), hambatan sedang (11-20 mm), dan hambatan kuat (21-30 mm) (Morales *et al.*, 2003). Pada hasil uji aktivitas antibakteri madu Seulawah terlihat diameter zona hambat yang berada di rentang 6-10 mm sehingga daya hambat yang dihasilkan madu Seulawah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* tergolong hambatan yang lemah.

Daya hambat madu Seulawah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang tergolong lemah dapat terjadi dikarenakan *P.aeruginosa* memiliki daya tahan yang kuat terhadap lingkungan fisik dan bahan kimia daripada bakteri lain. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif dengan dinding sel yang kompleks. Struktur dinding sel bakteri dapat menentukan ikatan, penetrasi, dan aktivitas senyawa antibakteri. Membran luar bakteri Gram negatif mengandung fosfolipid, lipopolisakarida dan lipoprotein yang jumlahnya sangat banyak sehingga dapat melindungi lisisnya peptidoglikan dan melindungi sel dari pengaruh lingkungan luar termasuk lingkungan yang hipertonis. Kandungan lipid yang lebih tinggi (11-22%) pada dinding sel bakteri ini juga mempengaruhi penurunan permeabilitas dinding sel yang mengakibatkan zat antibakteri sulit melakukan penetrasi untuk masuk ke dalam sel (Purnama, 2013; Yulianti, 2017; Surjowardojo *et al.* 2015).

Eksopolisakarida berupa alginat berbentuk gel kental yang berada di sekeliling bakteri merupakan produk yang dapat dihasilkan oleh bakteri *P.aeruginosa*. Alginat memungkinkan bakteri untuk membentuk koloni pada suatu permukaan hingga terbentuk sebuah biofilm. Kecenderungan berkolonisasi dalam bentuk biofilm membuat bakteri *P.aeruginosa* tahan terhadap antibiotik ataupun bahan antibakteri lain. Pada penelitian lain juga diketahui bahwa aktivitas metabolit *P.aeruginosa* 4 kali lebih besar pada pH 6 daripada pH 7,5. Hal ini menunjukkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki aktivitas metabolit yang baik pada pH yang lebih asam. Oleh karena itu, dengan adanya sifat ketahanan yang dimiliki *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan madu Seulawah tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan baik (Gunardi., 2017; Murphy *et al.* 2017).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa madu Seulawah memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan daya hambat yang lemah. Tidak ada konsentrasi optimum madu Seulawah yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah penulis bersyukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan nikmat dan kasih sayang-Nya serta kemudahan dalam setiap situasi sehingga tulisan ini dapat terselesaikan sebagaimana mestinya, meskipun penulis juga menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan. Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada seluruh pihak yang turut berpartisipasi dalam membantu menyelesaikan tulisan ini semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Azam M.W, Khan A.U. 2019. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discov Today* 24(1):350–9.
- Bengi WTM, Erina, Darniati. 2017. Isolasi dan identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* pada kasus Ear mites kucing domestik (*Felis domesticus*) di Kecamatan Syiah Kuala, Banda Aceh. *JIMVET* 01(2):161–8.
- Cappuccino J.G, Sherman N. 2014. *Microbiology: a laboratory manual*. 10th ed.
- D, Anggraini, Y, Utari Gusti, S, Maya, D, Fauzia Adriani, H N. 2018. Prevalensi dan pola sensitivitas antimikroba multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* di RSUD Arifin Achmad.;50(1):6–12.
- Dzvova N, Kruczek C, Hamood AN. 2016. In vitro analysis of *Pseudomonas aeruginosa* virulence using conditions that mimic the environment at specific infection sites. In: *Progress in molecular biology and translational science*. Elsevier Inc. page 151–91.
- Ekawati E.R, Yusmiati S.N.H, Herawati D. 2018. Identifikasi kuman pada pus dari luka infeksi kulit. *J Sain.Health.*;2(1):31–5.
- Fadhmi M dan ES. 2015. Perbandingan daya hambat madu Seulawah dengan madu Trumon terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J Biot*;3(1):9–14.
- Gunardi WD. Mekanisme biomolekuler *Pseudomonas aeruginosa* dalam pembentukan biofilm dan sifat resistensi terhadap antibiotika. Jakarta
- Hammad S. 2014. Kedokteran Nabi. Solo: Aqwamedika
- Hemraj V, Diksha S, Avneet G. 2013. A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare J Life Sci* 1(1):1–7.
- Heni, Arreneuz S, Zaharah TA. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK*;4(1):84–90.
- Illyya I, Haryanti S, Suedy SWA, 2017. Uji kualitas madu pada beberapa wilayah budidaya lebah madu di Kabupaten Pati. *J Biol*;6(2):58–65.
- Indriani Y, Mulqie L, Hazar S. 2015. Uji aktivitas antibakteri air perasan buah jeruk lemon dan madu hutan terhadap *Propionibacterium acne*. In: *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. Bandung. page 354–61.
- Morales G, Sierra P, Mancilla A, Paredes A, Loyola LA, Gallardo O, *et al.* 2003. Secondary metabolites from four medicinal plants from Northern Chile: Antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *J Chil Chem Soc* [Internet]; 48(2). Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-97072003000200002
- Murphy R.A, Simbo A, Pallant L, Bardin G, Davies J.C. 2017. The impact of pH on antibiotic susceptibility of clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J Cyst Fibros*;16(196): S117
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu V. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J MIPA UNSRAT*;2:128–32.
- Ngazizah FN, Ekowati N, Septiana AT. 2017. Potensi daun trembilungan (*Begonia hirtella* Link) sebagai antibakteri dan antifungi. *Biosfera*;33(3):126.
- Prestianti I, Baharuddin M, Sappewali S, D, Anggraini, Y, Utari Gusti, S, Maya, D, Fauzia Adriani, H N. 2018. Prevalensi dan pola sensitivitas antimikrob multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* di RSUD Arifin Achmad. *ALCHEMY J Penelit Kim* 50(1):314–22.
- Purnama W.B. 2013. Aktivitas antibakteri glukosa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*. Surakarta.
- Putri NA, Asparini RR. 2017. Peran madu dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada luka bakar. *Saintika Med* 13(2):63.
- Rahayu S.A, Gumilar M.H. 2017. Uji cemaran air minum masyarakat sekitar margahayu raya bandung dengan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. *IJPST* 4(2):50–6.

- Sholihah J. 2013. Aktivitas antibakteri dan antioksidan tiga jenis madu hutan Indonesia. Bogor: Institut Pertanian Bogor;.
- Staff Pengajar FK UI. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara;.
- Surjowardojo P, Susilorini TE, Sirait GRB. 2015. Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. penyebab mastitis pada sapi perah. *J Ternak Trop*;16(2):40–8.
- Yuliati. 2017. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *S. aureus* dan *P. aeruginosae*. *J Profesi Med*;11(1):10–22.