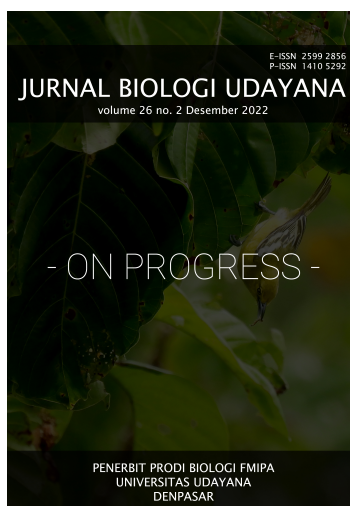


JURNAL BIOLOGI UDAYANA

[HOME](#) [ANNOUNCEMENTS](#) [CURRENT](#) [ARCHIVES](#) [ABOUT](#) ▼ [HOME](#) / [ARCHIVES](#) / Vol 26 No 2 (2022): JURNAL BIOLOGI UDAYANADOI: <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02>

PUBLISHED: 2022-10-18

ARTICLES

Potential of honey and propolis of *Tetragonula laeviceps* bees inhibitory to the in vitro growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria

Fernando Putra, Yan Ramona, I Made Saka Wijaya

153-164



PDF

DOI : <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02.p01>

Abstract views: 6, PDF downloads: 11

Habitat characteristics of the Javan Hawk-Eagle (*Nisaetus bartelsi*) in Alas Purwo National Park

Putu Ayu Irvana Swasti, Syartinilia Syartinilia

165-174



PDF

 DOI : <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02.p02>

 Abstract views: 5,  PDF downloads: 5

Diversity of orchid species on the Cemara Kandang hiking track, Mount Lawu, Central Java

Muhammad Daffa Irvani, Ratna Susandarini

175-185



PDF

 DOI : <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02.p03>

 Abstract views: 16,  PDF downloads: 10

Abundance of invasive alien species of teklan (*Ageratina riparia* (Regel) R. M. King & H. Rob.: Asteraceae) on floor vegetation in “Eka Karya” Botanical Garden, Bali

Dewa Ayu Intan Tirta Sari, I Made Saka Wijaya, Sutomo Sutomo

186-197



PDF

 DOI : <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02.p04>

 Abstract views: 3,  PDF downloads: 2

Gastropod community structure in traditional irrigation system (Subak) Sembung, North Denpasar

ni luh wayan hanny prabandari, Ni Luh Watiniasih, Mrs, Alfi Hermawati Waskita Sari, Mrs

198-206



PDF

 DOI : <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02.p05>

 Abstract views: 5,  PDF downloads: 6

Density and diversity of macrozoobenthos in mangrove ecosystem in coastal waters of Sehati Village, Central Maluku Regency

Karel Markus Melsasail

207-215



PDF

 DOI : <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2022.v26.i02.p06>

 Abstract views: 8,  PDF downloads: 8

MAKE A SUBMISSION

SUBMISSION

Focus and Scope

Peer Review Process

Publication Ethics and Publication Malpractice Statement

Policy of Screening for Plagiarism

Author Fees

Copyright Notice

Open Access Policy

Author Guidelines

Editorial Team

Reviewer Team

Contact

STATISTIC COUNTER



00158133 [View My Stats](#)

INDEXED BY



TOOLS



JURNAL BIOLOGI UDAYANA

(p-ISSN [1410-5292](#) | e-ISSN 2599-2856 | DOI [10.24843/jbiounud](#))

Managed by Biology Study Program, Faculty of Mathematic and Natural Science, University of Udayana

Jl. Raya Kampus Bukit Jimbaran, Kuta Selatan, Jimbaran, Badung, Bali 80361

email: jbiologi@unud.ac.id

Published by Biology Study Program, Faculty of Mathematic and Natural Science, University of Udayana

powered by OJS | Open Journal Systems

PKP | PUBLIC KNOWLEDGE PROJECT

Potensi madu dan propolis lebah *Tetragonula laeviceps* dalam menghambat pertumbuhan *in vitro* bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Potential of honey and propolis of *Tetragonula laeviceps* bees inhibitory to the *in vitro* growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria

Fernando Putra¹, Yan Ramona^{1,2*}, I Made Saka Wijaya¹

¹) Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Jl. Raya Kampus Unud, Jimbaran, Kec. Kuta Selatan, Kabupaten Badung, Bali 80361

²) Laboratorium terpadu Biosains dan Bioteknologi, Universitas Udayana
Jl. Raya Kampus Unud, Jimbaran, Kec. Kuta Selatan, Kabupaten Badung, Bali 80361

*Email: yan_ramona@unud.ac.id

Diterima 26 Januari 2022 Disetujui 28 Maret 2022

INTISARI

Madu, yang sangat baik untuk kesehatan manusia karena kandungan gizinya yang tinggi, merupakan produk dari lebah *Tetragonula laeviceps*. Selain madu, lebah ini juga menghasilkan beberapa produk turunan, seperti propolis yang sering digunakan sebagai suplemen kesehatan. Madu dan propolis telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba. Oleh karena itu, tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitasnya dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada berbagai uji *in vitro* (termasuk penentuan nilai MIC dan LC₅₀). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima taraf konsentrasi (15%, 20%, 30%, 40%, dan 50% v/v) untuk menentukan kedua produk lebah tersebut dalam menghambat pertumbuhan *in vitro* *S. aureus* dan *E. coli*. Etanol (etanol 95%) yang digunakan sebagai pelarut dalam percobaan dengan 5 ulangan ini berfungsi sebagai kontrol negatif. Zona hambat dan nilai MIC ditentukan dengan menggunakan metode sumur difusi, sedangkan metode *pour plate* pada media nutrisi agar diterapkan dalam penentuan nilai LC₅₀ madu dan propolis. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa madu konsentrasi 100% menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat masing-masing 12,50±1,09mm dan 6,60±0,60 mm. Hasil serupa juga ditunjukkan oleh propolis dengan diameter hambatan sebesar 15,50±1,08mm dan 8,10±1,00mm berturut-turut terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Pada penelitian utama, madu dan propolis memiliki nilai MIC yang sama yaitu 15% (v/v), sedangkan nilai LC₅₀ pada *S. aureus* masing-masing adalah 35,15% (v/v) dan 18,25% (v/v), dan pada *E. coli* masing-masing adalah 35,89% v/v) dan 28,2% (v/v). Propolis memiliki daya hambat yang lebih kuat terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan madu.

Kata kunci: Dual culture assay, *Escherichia coli*, madu, propolis, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Honey, which is good for human health due to its high nutrition content, is a product of bees that belongs to *Tetragonula laeviceps*. Besides honey, these bees also produce several derivative products, such as *propolis*, often used as a health supplement. Honey and *propolis* have been widely reported to have antimicrobial activity. Therefore, the main aim of this study was to investigate their effectiveness in inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in various *in vitro* tests (including determination of

MIC and LC₅₀ values). This study used a complete randomized design with five levels of concentrations (15%, 20%, 30%, 40%, and 50% v/v) to determine these two bee's products in inhibiting the *in vitro* growth of *S. aureus* and *E. coli*. Ethanol (95% ethanol) used as the solvent in this five replicated experiment, served as nil control. Inhibition zone and MIC values were determined by applying the diffusion well method. In contrast, a pour plate method on a nutrient agar medium was applied in the determination of LC₅₀ values of the honey and *propolis*. The results of the preliminary study showed that honey of 100% concentration inhibited the growth of *S. aureus* and *E. coli* with inhibition zones of 12.50±1.09 mm and 6.60±0.60mm, respectively. Similar results were also shown by *propolis* with inhibition diameters of 15.50±1.08mm and 8.10±1.00mm on respective lawns of *S. aureus* and *E. coli*. Both honey and *propolis* appeared to have MIC value of 15% (v/v), while their LC₅₀ values on *S. aureus* were 35.15% (v/v) and 18.25% (v/v), respectively, and on *E. coli* were 35.89% (v/v) and 28.2% (v/v), respectively. *Propolis* has a stronger inhibitory effect against *S. aureus* and *E. coli* when compared to honey.

Keywords: Dual culture assay, Escherichia coli, honey, propolis, Staphylococcus aureus

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen merupakan penyakit yang sangat umum ditemukan di negara-negara berkembang. Infeksi oleh mikroba patogen dapat meningkatkan angka *morbidity* dan *mortality*, terutama di negara berkembang karena tingkat pelayanan kesehatan di negara-negara tersebut relatif kurang baik jika dibandingkan dengan negara maju (Putri, 2019). Kelompok mikroba yang paling sering menjadi penyebab infeksi adalah kelompok jamur dan bakteri (Radji, 2011).

Tubuh manusia secara alamiah berasosiasi dengan berbagai mikroba, dan mikroba yang selalu dapat diisolasi dari tubuh manusia disebut dengan mikrobiota normal. Mikrobiota normal tersebut akan menyebabkan penyakit pada tubuh kita, bila jumlahnya berlebih atau tidak seimbang dengan kelompok lain (Fhistryani et al., 2017). *Escherichia coli* dan *S. aureus* misalnya, akan menyebabkan permasalahan di dalam saluran pencernaan manusia dan saluran pernapasan, bila kerapatannya sangat tinggi (Fitrianiingsih et al., 2014).

Escherichia coli merupakan bakteri fakultatif anaerob dan merupakan salah satu mikrobiota normal pada usus manusia. Pada hewan berdarah panas, kerapatan tertinggi bakteri ini dapat ditemukan pada usus besar atau saluran pencernaan bagian belakang (Hayhurst, 2004). *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis

vitamin K, konversi asam-asam empedu dan membantu dalam penyerapan makanan di dalam tubuh (Lai et al., 2022). Walaupun merupakan salah satu mikrobiota normal yang sangat penting dalam saluran pencernaan, *E. coli* dapat menjadi bakteri patogen dan mengeluarkan enterotoksin yang menyebabkan *gastroenteritis* apabila kerapatannya tidak terkontrol (Suardana et al., 2007).

Selain *E. coli*, *S. aureus* juga merupakan mikrobiota normal pada tubuh manusia. Bakteri ini biasanya terdapat pada saluran pernafasan atau pada kulit (Fhistryani et al., 2017). Jenis bakteri ini juga berpotensi menjadi patogen bila kerapatannya melebihi batas normalnya (535 CFU/mL) (Pratami et al., 2013). Dalam kasus tertentu, infeksi bakteri *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit dengan gejala, seperti peradangan, nekrosis, tumbuh jerawat, infeksi folikel rambut dan pembentukan abses (Razak et al., 2013).

Dalam kehidupan sehari-hari, madu sering digunakan dalam mencegah terjadinya infeksi yang disebabkan oleh patogen pada luka permukaan kulit. Madu merupakan cairan kental dari nektar tanaman yang telah diproses oleh lebah madu dan disimpan di dalam sarangnya. Selain dikenal masyarakat sebagai makanan, madu juga memiliki manfaat pada bidang kesehatan dan kecantikan. Madu memiliki sifat sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan. Selain memiliki pH yang rendah, tingkat osmolaritas

yang tinggi serta kadungan hidrogen peroksida pada madu, sangat cocok digunakan sebagai alternatif pengganti penggunaan antibiotik (Yuliati, 2017).

Beberapa jenis lebah mampu menghasilkan jenis madu yang khas, seperti madu klanceng yang dihasilkan oleh lebah *Tetragonula laeviceps* (Agussalim et al., 2021). Masyarakat Bali mengenal madu klanceng dengan sebutan madu kele (Dewantari & Suranjaya, 2019). Selain menghasilkan madu, lebah ini juga menghasilkan beberapa produk turunan, salah satunya adalah propolis. Madu kele memiliki khasiat yang lebih bagus dibandingkan dengan madu yang dihasilkan oleh lebah madu pada umumnya (Riyandoko, 2016). Propolis yang dihasilkan lebah ini juga memiliki banyak manfaat bagi tubuh (Dewantari et al., 2020).

Berdasarkan pada latar belakang diatas, maka penelitian tentang daya hambat *in vitro* madu dan propolis yang dihasilkan oleh *Tetragonula laeviceps* ini dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas kedua produk lebah tersebut dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada berbagai uji *in vitro* (termasuk penentuan nilai MIC dan LC₅₀).

MATERI DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana pada Januari – Juni 2021.

Bahan dan alat

Sampel yang digunakan adalah madu dan propolis dari lebah *Tetragonula laeviceps* yang diperoleh di Petapan Park Desa Aan, Klungkung, Bali. Bakteri uji yang digunakan meliputi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari RSUP Sanglah, Denpasar, Bali dan bakteri *E. coli* diperoleh dari Balai Besar Veteriner, Denpasar, Bali.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 level konsentrasi madu kele dan propolis (15%, 20%, 30%, 40%, 50% v/v) yang diujikan pada dua spesies bakteri (*S. aureus* dan *E. coli*). Larutan pengencer madu (etanol 95%) dan *chloramphenicol* (225 mg/mL) berperan berturut-turut sebagai kontrol negatif dan kontrol positif. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Uji Konfirmasi Bakteri

Isolat bakteri yang didapatkan dilakukan reisolasi ke medium *Nutrien Agar* (NA) dan diinkubasi pada inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Beberapa uji konfirmasi yang dilakukan pada penelitian ini antara lain uji katalase dengan larutan H₂O₂ dan pewarnaan Gram sebagai uji konfirmasi jenis bakteri. Pada bakteri *E. coli* dilakukan uji *Methyl Red* (MR), *Voges Proskauer* (VP), *indol* dan *sitrat*, sedangkan pada *S. aureus* dilakukan uji koagulase. Uji-uji ini merupakan uji karakteristik penting dari setiap bakteri yang akan dipakai dalam penelitian ini, sehingga dapat dipastikan bahwa bakteri uji yang dipakai adalah benar species yang dimaksud.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dibuat dengan menginokulasi biakan murni isolat - isolat tersebut ke dalam medium *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Untuk keperluan bioassay, kekeruhan bakteri diatur sebesar 0,5 skala McFarland (5%) yang setara dengan kerapatan sel sebesar 10⁸ sel/mL.

Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan pada larutan uji sampel dengan menggunakan metode sumur difusi (modifikasi metoda Bauer et al. 1966) Sampel dengan konsentrasi 100% sebanyak 20 µL (pada penelitian pendahuluan) dimasukkan ke dalam sumur difusi yang sebelumnya dibuat dengan jarak yang sama pada media *Nutrient Agar* (NA) yang telah di swab bakteri uji, dibiarkan selama 15 menit sampai larutan uji

sampel berdifusi, dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk dalam empat kuadran, kemudian dihitung rata-rata dan standar deviasinya.

Uji MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

Uji MIC dilakukan pada larutan uji sampel dengan variasi konsentrasi antara 15% - 50% terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Cawan Petri yang telah berisi media *Nutrient Agar* (NA) di swab bakteri uji. Sumur difusi dibuat sesuai jumlah perlakuan yang digunakan. Larutan uji sampel dan pelarut (etanol 95%) sebagai kontrol masing-masing sebanyak 20µL dimasukkan ke dalam sumur difusi yang sebelumnya dibuat, kemudian dibiarkan selama 15 menit sampai larutan uji sampel berdifusi, dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan dalam empat kuadran yang berbeda, dan hasilnya dirata-ratakan serta dilakukan penentuan nilai standar deviasinya. Konsentrasi terkecil yang memberikan zona hambat pada bakteri uji merupakan nilai MIC dari bahan yang diuji potensinya. Bila konsentrasi terendah dari assay ini menghasilkan zona hambat, maka MIC ditentukan dengan cara mengencerkan larutan madu dan propolis (15%) sehingga diperoleh konsentrasi antara 1-14%.

Uji LC50 (Lethal Concentration 50%)

Pengujian LC₅₀ dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate* (cawan tuang). Sebanyak 1mL larutan uji sampel dengan konsentrasi 15%-50% dimasukkan ke dalam cawan Petri. Selanjutnya, suspensi bakteri sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam cawan Petri lalu dicampurkan dengan media *Nutrient agar* (NA) secara merata. Homogenisasi dilakukan secara perlahan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pelarut digunakan sebagai pengencer berfungsi sebagai kontrol. Setelah inkubasi, dilakukan perhitungan koloni yang tumbuh dengan menggunakan *counter*. Hasil yang diperoleh kemudian diplot

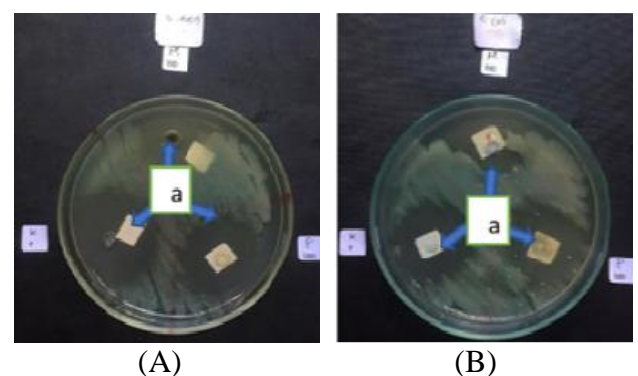
pada kurva yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi madu dengan kerapatan sel mikroba uji dan ditentukan persamaan regresinya. Nilai LC₅₀ selanjutnya dihitung dari persamaan regresi tersebut.

Analisis Data

Data yang diperoleh (setelah diuji normalitasnya) dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan analisis sidik ragam dengan bantuan *software SPSS* versi 26. Bila hasil yang diperoleh berbeda nyata ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan analisis uji jarak berganda Duncan.

HASIL

Efektivitas madu kele dan propolis dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 1. Daya hambat madu kele dan propolis (konsentrasi 100%) terhadap *S. aureus* secara berturut-turut sebesar $12,50 \pm 1,09$ mm dan $15,50 \pm 1,08$ mm, sedangkan daya hambat madu kele dan propolis terhadap *Escherichia coli* secara berturut-turut sebesar $6,60 \pm 0,60$ mm dan $8,10 \pm 1,00$ mm. Diameter yang terbentuk setelah perlakuan dengan madu kele dan propolisnya jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif (*Chloramphenicol*), dan nilai-nilai zona hambat yang ditunjukkan oleh madu kele dan propolisnya berbeda nyata secara statistik, jika dibandingkan dengan kontrol (Tabel 1).



Gambar 1. Daya hambat madu dan propolis (A) terhadap *S. aureus*; dan (B) terhadap *E. coli*. Keterangan: a = Zona hambat, M100 = madu (100%), P100 = propolis (100%), K+ = Kontrol positif (*Chloramphenicol*)

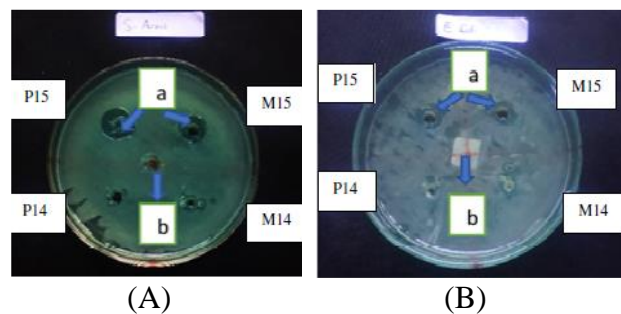
Tabel 1. Zona Hambat Madu Kele dan Propolis pada *S. aureus* dan *E. coli* dalam *bioassay* menggunakan metoda sumur difusi

Perlakuan	Zona Hambat (mm)*	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
K(+)	33,20 ± 1,60 ^e	24,3 ± 1,86 ^d
M100	12,50 ± 1,09 ^b	6,60 ± 0,60 ^a
P100	15,50 ± 1,08 ^c	8,10 ± 1,00 ^a

*Nilai-nilai pada Tabel 2 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari 5 kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf yang sama merupakan rerata yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) berdasarkan uji jarak berganda Duncan, setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova). Keterangan: K(+)
(antibiotik *chloramphenicol*), M100 (100% madu Kele), dan P100 (100% propolis).

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) yang dilakukan dengan metode sumur difusi, hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2. Nilai MIC madu kele dan propolis pada bakteri *S. aureus* adalah sebesar 15% dengan diameter zona hambat berturut-turut sebesar 12,50 ± 0,85 mm dan 15,50 ± 1,08 mm. Sementara itu, nilai MIC madu kele

dan propolis pada bakteri *E. coli* juga sebesar 15% dengan diameter zona hambat berturut-turut sebesar 6,60 ± 0,60 mm dan 8,10 ± 1,00 mm (Tabel 2). Secara umum terjadi peningkatan diameter zona hambat pada kedua bakteri uji yang sejalan dengan peningkatan konsentrasi madu dan propolisnya (Tabel 2).



Gambar 2. Uji MIC madu dan propolis (A) terhadap *S. aureus*; dan (B) terhadap *E. coli*. Keterangan: a = zona hambat, b = kontrol (etanol 95%), M15= madu(15%), P15(propolis 15%), M14= madu(14%), P14(propolis 14%).

Tabel 2. Diameter zona hambat Madu Kele dan Propolis pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang dipakai untuk menentukan nilai MIC

Perlakuan	Zona Hambat (mm)*	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
K(-)	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
M15	1,25 ± 0,85 ^b	0,80 ± 0,48 ^b
M20	2,50 ± 0,68 ^c	1,45 ± 0,59 ^c
M30	3,35 ± 0,58 ^d	2,25 ± 0,39 ^d
M40	4,05 ± 0,65 ^e	2,45 ± 0,76 ^e
M50	6,20 ± 0,65 ^f	3,35 ± 0,52 ^f
P15	1,70 ± 0,33 ^b	0,85 ± 0,29 ^b
P20	2,60 ± 0,29 ^c	1,40 ± 0,29 ^c
P30	4,20 ± 0,33 ^e	2,40 ± 0,45 ^e
P40	5,35 ± 0,29 ^f	4,00 ± 0,56 ^f
P50	6,50 ± 0,47 ^g	4,55 ± 0,65 ^g

*Nilai-nilai pada Tabel 3 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari 5 kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama merupakan rerata yang berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji jarak berganda Duncan, setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova). Keterangan: K(-) (larutan alkohol 95%), M15 (15% madu Kele), M20 (20% madu Kele), M30 (30% madu Kele), M40 (40% madu Kele), M50 (50% madu Kele), P15 (15% propolis), P20 (20% propolis), P30 (30% propolis), P40 (40% propolis), P50 (50% propolis)

Tabel 3 menunjukkan kerapatan sel bakteri akibat perlakuan yang diberikan. Data tersebut kemudian dibuat grafik yang menunjukkan hubungan antara kerapatan sel bakteri uji terhadap konsentrasi madu kele dan propolisnya, kemudian dilanjutkan dengan menentukan persamaan regresinya (Gambar 3). Persamaan ini

kemudian dipakai untuk perhitungan nilai LC_{50} dari madu kele dan propolisnya. Berdasarkan hasil perhitungan maka diperoleh nilai LC_{50} madu kele dan propolis pada *S. aureus* berturut-turut sebesar 35,15% (Gambar 3A) dan 18,25% (Gambar 3B). Sementara itu, nilai LC_{50} madu kele dan propolis terhadap *E. coli* berturut-turut

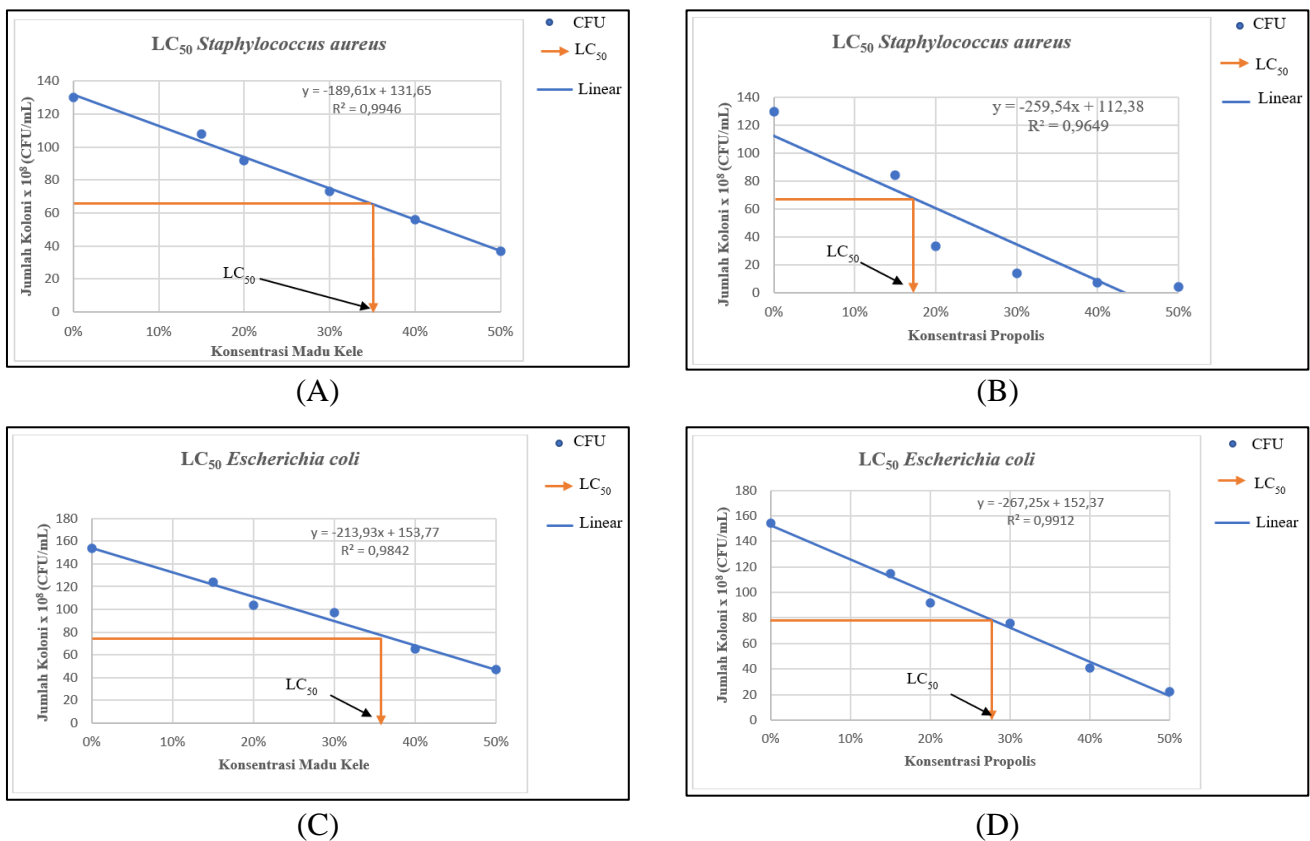
sebesar 35,89% (Gambar 3C) dan 28,2% (Gambar 3D). Hasil ini memberikan informasi bahwa madu kele dan propolis bersifat lebih toksik terhadap *S. aureus*, karena konsentrasi

yang diperlukan lebih kecil untuk menghambat 50% populasi bakteri ini jika dibandingkan dengan yang diperlukan untuk menghambat 50% populasi *E. coli*.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi madu kele dan propolis terhadap kerapatan sel *E. coli* dan *S. aureus* setelah terpapar selama 24 jam

Perlakuan	Daya Hambat Sampel terhadap Kerapatan Sel Mikrobiota (CFU/mL)*	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
K	(130,00 ± 10,77)x10 ^{8h}	(154,00 ± 11,40)x10 ^{8h}
M15	(108,00 ± 10,65)x10 ^{8g}	(124 ± 12,65)x10 ^{8g}
M20	(92,00 ± 8,51)x10 ^{8f}	(104,00 ± 14,12)x10 ^{8f}
M30	(73,00 ± 9,56)x10 ^{8e}	(91,00 ± 10,98)x10 ^{8e}
M40	(56,00 ± 10,79)x10 ^{8d}	(65,00 ± 7,21)x10 ^{8d}
M50	(37,00 ± 9,82)x10 ^{8c}	(47,00 ± 7,00)x10 ^{8c}
P15	(85,00 ± 10,12)x10 ^{8f}	(115,00 ± 12,90)x10 ^{8f}
P20	(33,00 ± 6,82)x10 ^{8d}	(92,00 ± 7,65)x10 ^{8d}
P30	(14,00 ± 4,95)x10 ^{8c}	(76,00 ± 4,18)x10 ^{8c}
P40	(7,00 ± 4,48)x10 ^{8b}	(41,00 ± 6,82)x10 ^{8b}
P50	(4,00 ± 2,24)x10 ^{8a}	(22,00 ± 4,58)x10 ^{8a}

*Nilai-nilai pada Tabel 4 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari 5 kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama merupakan rerata yang berbeda nyata (p>0,05) berdasarkan uji jarak berganda Duncan, setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).



Gambar 3. Penentuan nilai LC50 madu dan propolis (A) Nilai LC₅₀ madu terhadap *S. aureus* adalah 35,15%; (B) Nilai LC₅₀ propolis terhadap *S. aureus* adalah 18,25%; (C) Nilai LC₅₀ madu terhadap *E. coli* adalah 35,89%; dan (D) Nilai LC₅₀ propolis terhadap *E. coli* adalah 28,2%.

PEMBAHASAN

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan sifat sensitivitasnya ketika dilakukan uji daya hambat madu dan propolis (Tabel 1), yang dilakukan dengan metode sumur difusi. Berdasarkan data yang ditunjukkan pada Tabel 1, Madu kele dan propolis memiliki kekuatan daya hambat yang tergolong kuat (luas zona hambat 11 – 20 mm) terhadap *S. aureus*, sedangkan terhadap *E. coli* kekuatan daya hambatnya tergolong sedang (luas zona hambat 6 – 10 mm). Fenomena yang sama juga ditunjukkan oleh kontrol positif (*chloramphenicol*), walaupun zona hambat yang ditunjukkan oleh madu kele dan propolisnya pada kedua bakteri uji jauh lebih kecil daripada yang dihasilkan oleh kontrol positif ini (secara statistik berbeda nyata pada $p < 0,05$).

Secara umum terlihat pada Tabel 1 bahwa propolis bersifat lebih toksik terhadap kedua bakteri uji jika dibandingkan dengan madu yang diperlakukan pada taraf konsentrasi 100%. Zona hambat yang dihasilkan propolis pada biakan *S. aureus* berbeda nyata secara statistik ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan yang ditunjukkan oleh madu kele pada konsentrasi yang sama. Sementara itu, zona hambat yang dihasilkan oleh madu kele dan propolis terhadap biakan *E. coli* menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata secara statistik ($p > 0,05$), walaupun secara visual zona hambat yang dihasilkan oleh propolis relatif lebih besar daripada madu kele. Zona hambat yang terjadi pada kedua bakteri uji dapat disebabkan oleh beberapa senyawa toksik yang terkandung pada kedua bahan uji. Menurut Leliqia et al. (2021), madu kele mengandung senyawa-senyawa yang termasuk dalam golongan saponin, flavonoid, polifenol, dan steroid/triterpenoid. Beberapa penelitian sebelumnya, seperti Khongkwanmueang et al. (2020) dan Al Kafaween et al. (2019) melaporkan bahwa senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Dewi et al. (2017) juga melaporkan bahwa madu yang dihasilkan oleh lebah dari genus *Tetragonula* memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Selain golongan senyawa kimia di atas (saponin, flavonoid, polifenol, dan steroid/triterpenoid), tingkat keasaman (pH) madu kele juga diduga sebagai penyebab terbentuknya zona hambat. Dalam penelitian ini dan juga yang dilaporkan oleh Nur et al. (2019) menyebutkan bahwa pH madu kele tergolong asam (pH ± 4). Secara umum bakteri patogen dapat dengan mudah mengalami kematian bila terpapar lingkungan asam (Sutrisna et al., 2015). Dalam lingkungan asam akan terjadi aliran proton (dalam bentuk H^+) secara berlebih dari lingkungan menuju sitoplasma sel bakteri, sehingga terjadi akumulasi ion H^+ di dalam sitoplasmanya. Hal ini akan mengakibatkan terjadinya penurunan pH sitoplasma secara drastis dan pada akhirnya mengganggu proses-proses penting didalam sel, seperti rusaknya fungsi membrane plasma, terganggunya proses sintesa protein, atau terganggunya proses replikasi DNA (Rati et al., 2010). Pada kelompok patogen yang tidak memiliki mekanisme pompa proton, masuknya ion H^+ dari luar ke dalam sitoplasmanya akan menyebabkan pH di dalam sitoplasma menjadi lebih rendah daripada lingkungannya. Fenomena ini dapat menjadi penyebab kematian bakteri uji ketika dipaparkan pada lingkungan asam yang disebabkan oleh madu dan propolis pada penelitian ini.

Propolis yang dipakai dalam penelitian ini memberikan zona hambat yang lebih tinggi daripada madu karena kandungan senyawa kimianya lebih kompleks daripada madu (Mentari et al., 2018). Selain flavonoid, tanin dan steroid, propolis juga mengandung pinocembrin, galangin, pinobanksin, kumarat (*coumaric*), asam kafeat (*caffeic acid*), *prenylated p-coumaric* dan *diterpenic acids*. Semua senyawa tersebut dilaporkan oleh Susilo et al. (2009) mempunyai aktivitas antibakteri. Pinocembrin, selain mempunyai aktivitas anti bakteri, juga dilaporkan memiliki aktivitas anti jamur (Castaldo & Capasso, 2002). Dalam propolis juga terkandung derivat *caffeoylquinic acid* yang memiliki sifat *imunomodulator* dan *hepatoprotective* yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri. Menurut Junior et al. (2015) ekstrak etanol

propolis dapat bekerja secara sinergis dengan berbagai antibiotika, seperti kloramfenikol, gentamisin, netilmisin, tetrasiklin dan vankomisin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Data yang ditunjukkan pada Tabel 1 sejalan dengan laporan Hegazi & El Hady (2001) yang menyatakan bahwa propolis menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap kelompok bakteri Gram positif seperti *S. aureus*, tetapi agak lemah terhadap bakteri Gram negatif antara lain *E. coli*. Mekanisme kerja propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri diulas secara mendalam oleh Takasi et al. (1994) yang menyatakan bahwa propolis menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mencegah pembelahan sel, mengganggu aktivitas sitoplasma sel, melisis dinding sel, dan mengganggu sintesis protein. Yuliana et al. (2015) dan Wibowo et al. (2017) menyatakan selain dapat menghambat bakteri patogen, propolis juga dapat menghambat fungsi patogen.

Madu kele dan propolisnya mengandung flavonoid. Flavonoid dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa mekanisme, yaitu mengganggu sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi kerja membran sel dan menyebabkan lisis terhadap dinding sel (Prestianti et al., 2018). Kandungan fenol pada madu dan propolis dapat merusak membran sel dengan cara mendenaturasi protein dinding sel, sehingga mengganggu mekanisme transport materi melewati membran. Dengan kata lain permeabilitas membran akan terganggu akibat protein yang terkandung didalamnya terdenaturasi oleh senyawa fenol yang terkandung dalam madu dan propolis (Pelczar & Chan, 2008). Tidak hanya flavonoid, madu dan propolis juga mengandung saponin yang dapat merusak membran sel, sehingga integritas membran menjadi terganggu atau mengalami kerusakan yang fatal (Hasan et al., 2019). Saponin yang terdiri dari bagian hidrofilik dan lipofilik dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada permeabilitas atau rusaknya membran sel bakteri,

sehingga sel dapat mengalami kebocoran yang berujung pada kematian sel.

Dalam uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) tampak jelas efek peningkatan konsentrasi madu dan propolis terhadap peningkatan diameter zona hambat pada kedua bakteri uji (Tabel 2). MIC merupakan konsentrasi terkecil dari sampel uji yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*. Pada penelitian ini diperoleh nilai MIC madu kele dan propolis pada *S. aureus* dan *E. coli* sebesar 15% (v/v). Pada Tabel 2 dan 3 jelas terlihat bahwa diameter zona hambat madu kele dan propolis relatif lebih besar terhadap *S. aureus* dibandingkan terhadap *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa *S. aureus* memiliki sensitivitas yang lebih tinggi terhadap madu kele dan propolis jika dibandingkan dengan *E. coli*. Jika dibandingkan dengan kontrol, semua perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata secara statistik pada $p < 0,05$ (Tabel 2 dan 3). Zona hambat yang terbentuk pada uji ini disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung pada perlakuan, karena pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Rajeswari et al. (2010) melaporkan bahwa konsentrasi minimum madu yang dihasilkan lebah *Apis dorsata* terhadap *S. aureus* dan *E. coli* adalah berturut-turut sebesar 25% dan 40%. Hal ini mengindikasikan bahwa madu kele yang dihasilkan oleh kelompok lebah dari genus *Tetragonula* lebih toksik terhadap *S. aureus* dan *E. coli* daripada madu yang dihasilkan oleh lebah *A. dorsata*. Penelitian yang dilakukan Ristivojević et al. (2016) juga menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk lebih besar pada bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif pada MIC propolis. Rahman et al. (2010) menyatakan nilai MIC kombinasi madu dan propolis dalam menghambat bakteri patogen lebih rendah dibandingkan dengan madu atau propolis dalam menghambat bakteri patogen. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Becerril-Sánchez et al. (2021) yang menemukan bahwa kandungan senyawa flavonoid pada madu dan propolis bekerja secara sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Data pada Tabel 2 dan 3 sejalan dengan yang ditunjukkan pada Gambar 3. Pada uji ini, konsentrasi madu kele dan propolis yang dapat menyebabkan kematian 50% bakteri uji (LC_{50}) ditentukan berdasarkan regresi linier yang menunjukkan hubungan antara kerapatan sel bakteri uji terhadap konsentrasi madu dan propolis. Pada gambar 3A dan gambar 3C terlihat bahwa madu kele relatif lebih toksik terhadap *S. aureus* jika dibandingkan dengan terhadap *E. coli*, dengan nilai LC_{50} berturut-turut sebesar 35,15% dan 35,89%. Fenomena serupa juga ditunjukkan oleh propolis pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan nilai LC_{50} berturut-turut sebesar 18,25% dan 28,2%. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini (Gambar 3) sejalan dengan yang dilaporkan oleh Araya et al, (2020) yang menyatakan bahwa madu yang dihasilkan oleh kelompok lebah *Tetragonula* memiliki tingkat toksisitas yang lebih tinggi pada bakteri Gram positif jika dibandingkan dengan pada bakteri Gram negatif. *E. coli* memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan *S. aureus*, dan hal ini disebabkan enzim degradatif dan impermeabilitas selular yang dimiliki oleh *E. coli*. Selain itu, pada *E. coli* juga terdapat arabginogalaktan yang membatasi senyawa aktif biosida untuk mencapai daerah target (Zechner et al., 2020). Secara umum, dapat diketahui bahwa daya hambat madu kele dan propolis terhadap *S. aureus* dan *E. coli* termasuk golongan bakteriostatik. Bakteriostatik merupakan golongan daya hambat yang mampu menekan pertumbuhan dari suatu bakteri (Przybyłek et al., 2020). Perbedaan daya hambat antara madu dan propolis diakibatkan oleh bahan yang digunakan lebah dalam pembuatan propolis dan madu sehingga dapat mempengaruhi jenis senyawa aktif yang terkandung (Zahra et al., 2021).

SIMPULAN

Madu dan propolis dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* pada perlakuan 100% konsentrasi. Kisaran zona hambat propolis pada *E. coli* dan *S. aureus* berturut-turut adalah $8,10 \pm 1,00$ mm dan $15,50 \pm 1,08$ mm, sementara

itu zona hambat madu pada kedua bakteri tersebut berturut-turut sebesar $6,60 \pm 0,60$ mm dan $12,50 \pm 1,09$ mm. Daya hambat madu dan propolis terhadap *S. aureus* termasuk kategori kuat sedangkan terhadap *E. coli* termasuk kategori sedang. Madu dan propolis dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dengan batas konsentrasi hambat minimum sebesar 15%. Nilai LC_{50} madu terhadap kedua bakteri tersebut sebesar 35,15% dan 35,89%, sedangkan nilai LC_{50} propolis terhadap kedua bakteri tersebut sebesar 18,25% dan 28,2%. Tingkat toksisitas madu dan propolis lebih besar terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pengelola Petapan Park Desa Aan, Klungkung, Bali yang telah memberikan kesempatan untuk mengambil sampel yang kami perlukan untuk diuji di laboratorium. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Udayana yang telah memberikan izin menggunakan peralatan yang kami perlukan selama penelitian, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

KEPUSTAKAAN

- Agussalim, Umami N, Nurliyani, and Agus A. 2021. The physicochemical composition of honey from Indonesian stingless bee (*Tetragonula laeviceps*). *Biodiversitas* **22(8)**: 3257-3263. DOI: 10.13057/biodiv/d220820.
- Andreasen CB. 2008. *Staphylococcosis in Diseases of Poultry*. 12th ed. Blackwell Publishing: USA.
- Araya K, Arpatsorn N, Lars S, and Jakkrawut M. 2020. Physicochemical Profiles, Antioxidant and Antibacterial Capacity of Honey from Stingless Bee *Tetragonula laeviceps* Species Complex. *E3S Web of Conferences* **141**: 03007. DOI: 10.1051/e3sconf/202014103007

- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, and Turck M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method, *American Journal of Clinical Pathology* **45**: 493–496, https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Becerril-Sánchez AL, Quintero-Salazar, B, Dublán-García, O, and Escalona-Buendía HB. 2021. Phenolic Compounds in Honey and Their Relationship with Antioxidant Activity, Botanical Origin, and Color. *Antioxidants* **10**: 1700. <https://doi.org/10.3390/antiox10111700>.
- Cowan MM. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12**: 564-582.
- Dewi MA, Kartasmita RE, Wibowo MS. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Madu Asli Lebah Asal Indonesia Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi* **5(1)**:27-30.
- Dewi MK. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Jurnal Lentera Bio* **3(1)** : 51-57.
- Dewantari M, Suranjaya IG. 2019. Pengembangan Budidaya Lebah Madu *Trigona* spp. Ramah Lingkungan di Desa Antapan Kecamatan Baturiti Kabupaten Tabanan. *Buletin Udayana Mengabdi* **18(1)**: 114-119.
- Dewantari M, Sumardani NLG dan Suranjaya IG. 2020. Pengembangan Budidaya Lebah Madu Lokal “Kele-Kele” (*Trigona* Spp) Pada Masyarakat Pinggiran Hutan Di Kecamatan Pupuan Kabupaten Tabanan. *Buletin Udayana Mengabdi* **19(1)**: 6-11.
- Fhitryani S, Suryanto D, Karim A. 2017. Pemeriksaan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. pada Jamu Gendong yang Dijajakan di Kota Medan. *BIOLINK(Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)* **3(2)**: 146-55.
- Fitrianingsih SP, Lestari F, Aminah S. 2014. Uji Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* Gaertner Voss) Dengan Metode Perendaman DPPH. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan PKM Sains, Teknologi dan Kesehatan* **4(1)**: 49-54.
- Gnanamani A, Hariharan P, Paul-Satyaseela M. 2017. *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. *Frontiers inStaphylococcus aureus* **4**:28.
- Hasan AZ, Artika IM, Popi AK, Lasmiyanti M. 2019. Propolis sebagai Alternatif Bahan Antikaries Gigi. *Chemistry Progress* **4(1)**: 45-53.
- Hegazi AG, Abd El Hady FK. 2001. Egyptian propolis: 1-antimicrobial activity and chemical composition of Upper Egypt propolis. *Zeitschrift für Naturforschung* **56(1-2)**: 82-88.
- Hemraj V, Diksha, Avneet. 2013. A Review on commonly used Biochemical Test for Bacteria. *Journal of Life Science* **1(10)**: 1-7.
- Hayhurst C. 2004. Epidemics Deadly Diseases Throughout History *E. coli*. The Rosen Publishing Group: New York.
- Junior AF, Dalestrin AC, Betoni JEC, Orsi RO, da Cunha MLRS, Montelli AC. 2005. Propolis: Anti-*Staphylococcus aureus* activity atid Synergism with Antimicrobial drugs. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **100(5)**: 563-566.
- Khongkwanmueang A, Nuyu A, Straub L, Maitip J. 2020. Physicochemical Profiles, Antioxidant and Antibacterial Capacity of Honey from Stingless Bee *Tetragonula laeviceps* Species Complex. In *E3S Web of Conferences EDP Science* **14**: 1-6.
- Lai Y, Masatoshi H, Ma Y, Guo Y and Zhang B (2022) Role of Vitamin K in Intestinal Health. *Front. Immunol.* **12**: 791565. doi: 10.3389/fimmu.2021.791565.
- Leboffe MJ, Pierre BE. 2011. *A Photographic Atlas for The Microbiology Laboratory*. Morton: London.
- Leliqia NPE, Trisna NKCA, Paramita NLPV. 2021. Potensi Madu Kele Bali Dan Kombinasinya Dengan VCO Sebagai *Antiacne*. *SCIENTIA: Jurnal Farmasi dan Kesehatan* **11(1)**: 88-95.
- McDevitt SF. 2010. *Methyl red test on Escherichia coli and Enterobacter aerogenes*. American Society for Microbiology: USA.

- Mentari IN, Arifin Z, dan Kurniawan E. 2018. Efektivitas Antibakteri Madu dan Propolis terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Media of Medical Laboratory Science* **2(1)**: 1-12.
- Murali A, Patel S. 2017. The Effect of Different Heavy Metal Acetate Solutions on the Inhibition of Catalase Enzyme. *Journal of the South Carolina Academy of Science* **15(2)**: 13.
- Mustafidah CS, Alimudddin. 2015. Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Berbagai Fraksi Daun Mahang (*Macaranga apruina* (Miq.) Mull. Arg.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal kimia Mulawarman* **12(2)**: 83-88.
- Naylor SW, Gally DL, Low JC. 2005. Enterohaemorrhagic *E. coli* in Veterinary Medicine. *International Journal of Medical Microbiology* **295(6-7)**:419-441.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Penerbit Universitas Indonesia: Jakarta.
- Pratami HA, Apriliana E, Rukmono P. 2013. Identifikasi Mikroorganisme pada Tangan Tenaga Medis dan Paramedis di Unit Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek Bandar Lampung. *Jurnal Majority* **2(5)**: 85-94.
- Prestianti I, Baharuddin M, Sappewali S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah Hutan (*Apis dorsata*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia* **14(2)**: 314-322.
- Przybyłek I, Karpiński TM. 2019. Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*. **24(11)**: 2047.
<https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
- Puspawati NN, Nuraida L, Adawiyah DR. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang di Isolasi dari Air Susu Ibu pada Proses Pengeringan Beku. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **21(1)**: 59-59.
- Putri RN. 2019. Perbandingan Sistem Kesehatan di Negara Berkembang dan Negara Maju. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi* **19(1)**: 139-146.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC: Jakarta.
- Rahman MM, Richardson A, and Sofian-Azirun M. 2010. Antibacterial activity of propolis and honey against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology Research* **4(16)**: 1872-1878.
- Rajeswari T, Venugopal A, Viswanathan C, Kishmu L, Venil CK, Sasikumar JM. 2010. Antibacterial Activity of Honey Against *Staphylococcus aureus* from Infected Wounds. *Pharmacologyonline* **1**:537-541.
- Razak A, Djamal SH, Revilla G. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas* **2(1)**: 5-8.
- Ristivojević P, Dimkić I, Trifković J, Berić T, Vovk I, Milojković-Opsenica D, Stanković S. 2016. Antimicrobial Activity of Serbian Propolis Evaluated by Means of MIC, HPTLC, Bioautography and Chemometrics. *PloS One* **11(6)**: 1-15.
- Riyandoko RS. 2016. Memelihara Lebah Trigona: Panen Madu Tanpa Tersengat. *Lembar Informasi Kanoppi* **3**: 1-4.
- Sakagami SF. 1978. Tetragonula Stingless Bees of the Continental Asia and Sri Lanka (Hymenoptera, Apidae). *Journal Faculty of Science* **21(2)**: 165-247.
- Soedarto. 2014. *Mikrobiologi Kedokteran : Medical Microbiology*. Sagung Seto: Jakarta.
- Sridhar RPN. 2006. *IMVic reaction*. Dept. Of Microbiology. JJMMC: Davangere.
- Susanto D, Sudrajat, Ruga R. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarman Scientific* **11(2)**: 181-190.
- Sutrisna R, Ekowati CN, Sinaga ES. 2015. Pengaruh pH terhadap Produksi Antibakteri oleh Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* **15(3)**: 234-238.
- Suardana IW, Sumiarto B., Lukman DW. 2007. Isolasi dan identifikasi *E. coli* O157:H7 pada daging sapi di Kabupaten Badung Provinsi Bali. *Jurnal Veteriner* **8(1)**: 16-23.

- Takasi KNB, Schilr H. 1994. Electron microscopic investigation of the possible Mechanism of the antibacterial action of propolis. *Provenance Planta Med.* **60(3)**: 222 – 227.
- Tripathi N, Sapra A. 2020. *Gram Staining*. StatPearls: Florida
- Wibowo A, Widjiastuti I, Saraswati W. 2017. Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Propolis Lawang Terhadap *Candida albicans*. *Conservative Dentistry Journal* **7(1)**: 37-42.
- Yuliana R, Sutariningsih E, Santoso HB, Riendrasari SD. 2015. Daya Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona* spp terhadap Mikrobia Patogen. *Bioedukasi: Jurnal Pendidikan Biologi* **8(1)**: 67-72.
- Yuliaty. 2017. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosae* dengan Metode Disk Diffusion. *Jurnal Profesika Medika* **11(1)**: 7-15.
- Zahra NN, Muliawati H, Andayani Y, Sudarma IM. 2021. Analisis Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antiradikal Bebas Madu dan Propolis *Trigona* sp. Asal Lombok Utara. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry* **6(1)**: 74-82.
- Zechner V, Sofka D, Paulsen P, Hilbert F. 2020. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* and Resistance Genes in Coliphages from a Small Animal Clinic and in a Patient Dog with Chronic Urinary Tract Infection. *Antibiotics* **9(10)**: 652. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100652>