

WAL'AFIAT HOSPITAL JOURNAL

ARTIKEL RISET

URL artikel:

Uji Efektifitas Madu sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Salmonella Thypii Secara *In Vitro*

^kArni Isnaini Arfah¹, Moch. Erwin Rachman², Ekarisma Faradita Wardihan³

^{1,2}Dosen Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran

³Program Studi Pendidikan Dokter Umum, Fakultas Kedokteran,
Universitas Muslim Indonesia

Email Penulis Korespondensi (^k): arniisnaini.arfah@umi.ac.id
(085255491100)

ABSTRAK

Sampai saat ini demam tifoid masih merupakan masalah kesehatan di negara-negara tropis termasuk Indonesia. Demam Tifoid disebabkan oleh bakteri Salmonella typhii. Bakteri ini, merupakan patogen yang spesifik menyerang saluran pencernaan manusia yang masuk kedalam tubuh melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Penyakit ini merupakan penyakit yang menular yang dapat menyerang banyak orang mulai dari usia balita, anak-anak dan dewasa. Pengobatan penderita demam tifoid dengan terapi supportif yakni tirah baring dan pemberian gizi yang cukup serta pemberian antibiotik. Menurut Depkes RI 2009 pemberian antibiotik berupa kloramfenikol. Akan tetapi Sejak zaman Nabi Muhammad SAW madu telah di pergunakan untuk pengobatan sebagaimana Allah SWT berfirman dalam Al-Quran Surah An-Nahl ayat 69 yang artinya “Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, didalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Rabb) bagi orang-orang yang memikirkan” Maka dari ayat ini, penulis ingin mengetahui efektifitas madu sebagai antibakteri terhadap bakteri Salmonella thypii. Penelitian ini menggunakan *true experimental post test* dengan menggunakan Madu yang diencerkan ke dalam konsentrasi 35%, 50%, 75% dan 100% menggunakan dua replikasi, yang mana masing-masing replikasi yang kemudian di rendam didalam paper disk, kemudian ditanam kedalam biakan bakteri Salmonella thypii. Dan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif Kloramfenikol 500 mg. Hasil penelitian menunjukkan Zona hambat minimal (ZHM) bersifat sensitif terhadap bakteri Salmonella thypii dengan masing-masing pada replikasi I konsentrasi 50% (36,05mm), konsentrasi 75% (27,30mm) dan konsentrasi 100% (36,05mm). Sedangkan replikasi II, pada konsentrasi 50% (26,53mm), pada konsentrasi 75% (26,56mm) dan konsentrasi 100% (32,64mm).

Kata kunci: Madu, Uji Efektifitas, *Salmonella thypii*.

PUBLISHED BY:

Rumah Sakit Ibnu Sina
YW-Universitas Muslim Indonesia

Address :

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI)
Makassar, Sulawesi Selatan.

Email :

Walafiathospitaljournal@umi.ac.id

Phone :

+62 852242150099

Article history:

Received: 27 April 2021

Accepted: 30 Juni 2021

Published: 30 Juni 2021

licensed by [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



ABSTRACT

Until recently, typhoid fever is still a kind of health issues in some tropical countries including Indonesia. Typhoid fever is caused by *Salmonella thypii* bacteria. The bacteria is a specific pathogen which strikes human digestive tract that is inserted into human's body through contaminated food and drink. This is such an infectious disease which is able to strike people from toddler years, children, and adulthood. A treatment to the typhoid fever patient by taking supportive therapy which is known as bed rest and also giving a nutritious food and antibiotics. According to Depkes RI 2009, the given antibiotics that is chloramphenicol. However, in Prophet Muhammad shalallahu 'alaihi wasallam era, honey had been used to treat a kind of diseases as is in the Holy Qur'an, Chapter An Nahl, verse 69 which is : "Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, didalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Rabb) bagi orang-orang yang memikirkan". Based on this verse, researcher wanted to know the effectiveness of honey on *Salmonella thypii* bacteria. This research used true experimental post test by taking aqueous honey into concentrate 35%, 50%, 75% and 100% using two replications, which each of replications was soaked into a paper disk, and planted in the culture of *Salmonella thypii* bacteria. Compared to controlling group, positive chloramphenicol 500 mg. The result of this research showed that Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was sensitive to *Salmonella thypii* bacteria in each of to replication I concentration 50% (36,05mm), concentration 75% (27,30mm) and concentration 100% (36, 05mm). Whereas replication II, in concentration 50% (26,53mm), in concentration 75% (26,56mm) and concentration 100% (32,64mm).

Keywords: Honey, Effectiveness Assay, *Salmonella thypii*.

PENDAHULUAN

Sampai saat ini demam tifoid masih merupakan masalah kesehatan di negara-negara tropis termasuk Indonesia dengan angka kejadian sekitar 760 sampai 810 kasus pertahun dan angka kematian 3,1 sampai 10,4%. Data dari WHO (World health Organisation) memperkirakan angka insidensi seluruh dunia sekitar 17 juta pertahun dalam 600.000 orang meninggal karena penyakit ini. WHO memperkirakan 70% kematian terjadi di Asia. Diperkirakan angka kejadian dari 150/100.000 pertahun di Amerika Selatan dan 900/100.000 pertahun di Asia.¹

Salmonella typhi, merupakan bakteri gram (*negatif*) penyebab penyakit demam tifoid atau typhus abdominalis atau disebut juga demam enterik. *Salmonella thypii* merupakan patogen yang spesifik menyerang manusia. Pada pasien dengan demam tifoid, bakteri ini berada di dalam saluran pencernaan. Bakteri ini masuk kedalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Bakteri ini menyebabkan infeksi akut demam lebih dari 7 hari serta gangguan pada saluran pencernaan dengan atau tanpa gangguan kesadaran. Penyakit ini merupakan penyakit yang menular yang dapat menyerang banyak orang mulai dari usia balita, anak-anak dan dewasa. Selain itu demam tifoid juga dapat menyebabkan komplikasi apabila tidak diobati dengan tepat. Pada kenyataannya masyarakat menganggap demam tifoid merupakan penyakit yang sudah biasa terjadi dan tidak berbahaya.²

Pengobatan penderita demam tifoid dengan terapi supportif yakni tirah baring dan pemberian gizi yang cukup serta pemberian antibiotik. Antibakteri atau antibiotik adalah obat untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus ditentukan memiliki toksitas selektif setinggi mungkin. Artinya obat tersebut harus bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik terhadap hospes.

Menurut Depkes RI 2009 pemberian antibiotik berupa kloramfenikol, amoksisilin, kontrimoksazol, seftriakson dan sefiksim.³

Sejak zaman Nabi Muhammad SAW madu telah di pergunakan untuk pengobatan sebagaimana Allah SWT berfirman dalam Al-Quran Surah An-Nahl ayat 69 yang artinya “Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, didalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Rabb) bagi orang-orang yang memikirkan”.⁴

Madu juga dipercaya memiliki aktifitas antibakteri White (1975) melaporkan bahwa aktifitas antibiotika yang ditemukan dalam madu ditentukan oleh tiga system. Ketiga sistem tersebut adalah keasaman, tekanan osmosis dan substrat inhibitor. Faktor-faktor penentu tersebut bekerja sendiri-sendiri ataupun bersamaan mengurangi pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme kontaminan.⁵

METODE

Penelitian ini adalah penelitian true experimental post test dengan menggunakan metode *disc diffusion* untuk melihat efektivitas Madu sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypii* secara in vitro.

Sampel penelitian ini menggunakan Madu tanpa perlakuan ekstraksi sebelumnya yang kemudian di ekstraksi dalam konsentrasi 35%, 50%, 75% dan 100%, serta Serta bakteri *Salmonella thypii* biakan murni.

Cara pengambilan penelitian

Alat-alat yang akan digunakan dicuci hingga bersih dengan air suling, kemudian alat-alat gelas dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dengan menggunakan oven dimana suhunya mencapai 160-1800C selama 1-2 jam. Alat-alat gelas yang berskala dan tidak tahan terhadap pemanasan dan yang terbuat dari plastik disterilkan dalam outoklaf pada suhu 1210C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit atau 20 menit.

Pengambilan sampel madu diperoleh dari supermarket terdekat. Pembuatan madu dengan konsentrasi 35%, 50%, 75% dan 100% dengan cara: Siapkan 4 buah Vial yang telah di beri label 35%, 50%, 75% dan 100%. Vial 1, Madu 35 ml dilarutkan dengan aquades 65 ml, Vial 2, madu 50 ml dilarutkan dalam aquades 50 ml, Vial 3, madu 75 ml dilarutkan dalam aquades 25 ml dan Vial 4, madu 100% tidak perlu dilarutkan. Setelah itu semua Vial tadi ditutup dengan kapas agar tetap steril dan tidak terkontaminasi.

Pembuatan medium utrient agar

Nutrient agar ditimbang sebanyak 0,81 gram untuk volume 30 ml, kemudian dilarutkan dengan *aquades* sebanyak 30 ml dalam Erlenmeyer, setelah itu dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih dan bahan larut. Kemudian, dimasukkan ke dalam 4 buah tabung reaksi masing-masing 5 ml lalu tutup mulut tabung dengan kapas lalu diberi kertas aluminium foil, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121oC pada tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah steril media dikeluarkan lalu dimiringkan sedikit lalu dibiarkan memadat.

1. Penyiapan Bakteri uji yang digunakan yaitu *Salmonella thypii* yang berasal dari biakan murni, masing-masing diambil sebanyak satu ose lalu diinokulasikan dengan cara goresan pada medium Nutrient agar lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.
2. Pembuatan Suspensi: Masing-masing bakteri uji yang berumur 24 jam dari agar disuspensikan dengan bantuan larutan aquades. Suspensi kemudian dituang ke dalam cuvet berdiameter 13 mm. Penentuan kepadatan suspensi biakan diatur sehingga diperoleh pengenceran yang diharapkan pada panjang gelombang 580 nm yang memiliki transmitansi 25% (setara dengan kepadatan 10⁸) terhadap blanko aquades dengan menggunakan alat spektrofotometer.
3. Larutan control positif antibiotik Kloramfenikol 500mg dan sebagai control negative digunakan larutan blanko.

Uji efektifitas

1. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi agar yang menggunakan paper disk berukuran 15 mm.
2. Medium Nutrient Agar steril dipanaskan pada suhu 40°C-45°C. kemudian dituangkan suspensi bakteri uji secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 1 ml, selanjutnya dituangkan medium Nutrient Agar sebanyak 12-15 ml di atasnya, dihomogenkan dan dibiarkan memadat.
3. Kemudian Sediakan 4 buah vial, masukkan madu yang telah diencerkan tadi yaitu konsentrasi 35%, 50%, 75% dan 100%
4. Masukkan larutan DMSO sebanyak 1 ml kedalam masing-masing vial yang berisi dengan madu yang telah diencerkan
5. Tunggu hingga madu terlarut bersama dengan larutan DMSO sekitar 15-30 menit
6. Masukkan paper disk sebanyak 2 buah kedalam masing-masing vial kemudian tunggu hingga 15 menit sampai paper disc blank larut kedalam madu yang telah diencerkan tadi
7. Sediakan pinset dan sediakan cawan petri yang telah diberi suspensi bakteri
8. Gambar garis dibalik cawan petri hingga cawan petri terbagi menjadi 2 bagian, tulis 35%, dan 50% serta pada cawan petri lainnya 75% dan 100% pada masing-masing bagiannya
9. Ambil masing-masing paper disk yang telah direndam dari vial dengan konsentrasi 35%, 50%, 75% dan 100%
10. Masukkan *paper disk* kedalam cawan petri (konsentrasi yang sama dengan konsentrasi yang tertera dalam cawan petri dengan paper disc yang diambil dari konsentrasi madu yang telah diencerkan tadi), jarak *paper disc* dari pinggir cawan petri 2 cm.
11. Lakukan hal yang sama pada uji control positif dengan antibiotik kloramfenikol
12. Bungkus ke-5 cawan petri dengan kertas kemudian masukkan kedalam inkubator dengan suhu kamar atau 37°C. kemudian diamkan selama 1x24 jam
13. Dan ukur daerah hambatan dengan menggunakan jangka sorong satuan (mm)
14. Bandingkan zona hambat yang dihasilkan oleh madu tadi dengan zona hambat yang dihasilkan oleh antibiotik kloramfenikol

15. Lihat efektifitas dari madu terhadap bakteri *Salmonella thypii***HASIL**Tabel 2. Zona Hambat Minimal Madu terhadap bakteri *Salmonella Thypii*

No	Bakteri Uji	Replikasi	Konsentrasi			
			35%	50 %	75%	100%
1.	<i>Salmonella Thypii</i>	1	20,50 mm	24,32 mm	28,83 mm	37,56 mm
			21,33 mm	25,85 mm	25,46 mm	34,15 mm
			21,63 mm	26,67 mm	27,63 mm	36,46 mm
		Rata-Rata	21,15 mm	25,61 mm	27,30 mm	36,05 mm
		Interpretasi	Intermedia	Sensitif	Sensitif	Sensitif
		2	22,28 mm	27,02 mm	26,04 mm	33,18 mm
			23,08 mm	26,86 mm	25,83 mm	28,44 mm
			23,38 mm	25,72 mm	27,81 mm	36,31 mm
		Rata-Rata	22,91 mm	26,53 mm	26,56 mm	32,64 mm
		Interpretasi	Intermedia	Sensitif	Sensitif	Sensitif

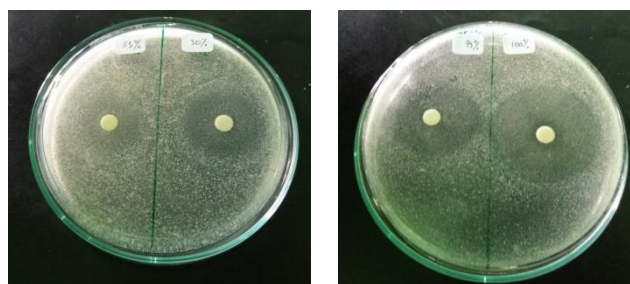
Dari penelitian yang telah dilakukan hasil sebagai berikut:

Dari konsentrasi 35%, 50%, 75% dan 100% di dapatkan dari madu yang di encerkan menggunakan aquades steril bahwa pada konsentrasi 35% didapatkan zona hambat yang terbentuk dengan interpretasi intermediate, pada konsentrasi 50% zona hambat yang terbentuk sudah merupakan antibakteri yang sensitif terhadap bakteri *Salmonella Thypii*. Sedangkan pada konsentrasi 75% dan 100% memperlihatkan zona hambat yang terbentuk lebih besar daripada konsentrasi 50% dan sebagai kontrol positif digunakan antibakteri Kloramfenikol.

Tabel 2. Zona Hambat Minimal Antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella Thypii*

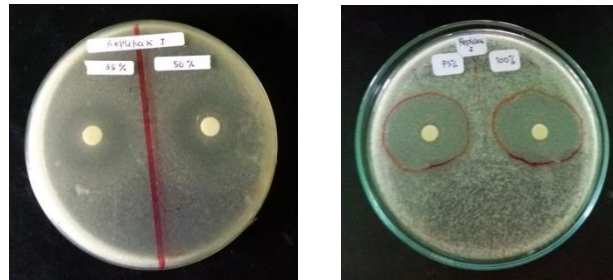
No	Antibiotik	Replikasi	Pengukuran (mm)
1	Kloramfenikol	1	29,57
			89,25
			32,06
		Rata-rata	50,29
		Interpretasi	Sensitif

Pada kontrol positif dengan antibiotik kloramfenikol didapatkan zona hambat dengan interpretasi sensitif pada bakteri uji. Interpretasi zona hambat ditentukan berdasarkan tabel acuan interpretasi zona hambat. Zona hambat <14mm dikatakan resisten, 15-22 mm intermediate dan >23 mm sensitif.



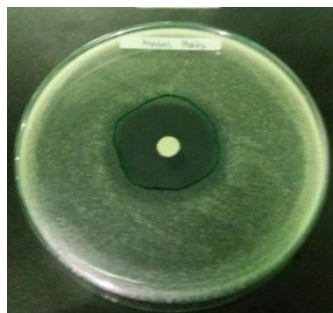
Gambar 1. Replikasi (A=kiri & B=kanan)

Gambar 1. *Replikasi 1.* (A) Zona hambat Madu yang terbentuk pada konsentrasi 35% (kiri) dan 50% (kanan) terhadap bakteri *Salmonella thypii*. (B) Zona hambat Madu yang terbentuk pada konsentrasi 75% (kiri) dan 100% (kanan) terhadap bakteri *Salmonella thypii*



Gambar 2. Replikasi (A=kiri & B=kanan)

Gambar 2. *Replikasi 2.* (A) Zona hambat Madu yang terbentuk pada konsentrasi 35% (kiri) dan 50% (kanan) terhadap bakteri *Salmonella thypii*. (B) Zona hambat Madu yang terbentuk pada konsentrasi 75% (kiri) dan 100% (kanan) terhadap bakteri *Salmonella thypii*.



Gambar 3. Kontrol Positif

Gambar 3. *Kontrol Positif* merupakan Zona hambat Antibiotik (Kloramfenikol) terhadap bakteri *Salmonella thypii*.

PEMBAHASAN

Terbentuknya zona bening disekitar paper disc mengindikasikan adanya hambatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella thypii*. Kemudian diameter zona bening/hambat yang terbentuk tersebut di ukur dengan menggunakan jangka sorong dan dinyatakan satuan meter milimeter (mm). Semakin besar/luas zona hambat yang terbentuk maka mengindikasikan bahwa semakin besar pula aktifitas anti bakteri madu.

Diameter zona hambat yang terbentuk oleh variasi konsentrasi (35%, 50%, 75% dan 100%) madu pada koloni bakteri salmonella thypii yang dibandingkan dengan zona hambat/ bening disekitar paper disc yang berisi antibiotik kloramfeniko; 500mg.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi efektif madu sebagai antibakteri terhadap *Salmonella thypii* dan zona hambat yang dihasilkan oleh variasi konsentrasi madu.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada percobaan replikasi 1, madu dengan konsentrasi 35% menunjukkan hasil zona hambat minimal (ZHM) dengan interpretasi intermediate yakni dengan diameter rata-rata 21,15 mm, sedangkan madu dengan konsentrasi 50% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitif dengan diameter rata-rata 25,61mm, dan madu pada konsentrasi 75% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitif dengan diameter rata-rata 27,30 mm serta madu pada konsentrasi 100% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitif dengan diameter rata-rata 36,05 mm.

Sedangkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada percobaan replikasi 2, didapatkan madu dengan konsentrasi 35% menunjukkan hasil zona hambat minimal (ZHM) dengan interpretasi intermediate yakni dengan diameter rata-rata 22,91 mm, sedangkan madu dengan konsentrasi 50% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitif dengan diameter rata-rata 26,53 mm, dan madu pada konsentrasi 75% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitif dengan diameter rata-rata 26,56 mm serta madu pada konsentrasi 100% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitif dengan diameter rata-rata 32,64 mm.

Interpretasi zona hambatan ditentukan berdasarkan acuan menurut CLSI (*Clinical and Laboratory and Standards Institute* 2013)⁶ dituangkan pada table 1:

Tabel 1. Acuan Interpretasi Zona Hambatan

Resisten	<14 mm
Intermedia	15-22 mm
Sensitive	>23mm

Adapun beberapa faktor yang dapat mempengaruhi terbentuknya zona hambat minimal madu terhadap bakteri *Sakmonella thypii* adalah dikarenakan, (1) Kadar gula madu yang cukup tinggi yang terdiri dari monosakarida, yaitu fruktosa dan glukosa. Interaksi kuat dari molekul-molekul gula tersebut yang akan menarik molekul air yang tersedia untuk mikroorganisme, sehingga mikroorganisme tersebut akan kehilangan air dari proses ini dan akan mengalami dehidrasi sehingga dapat membunuh mikroorganisme tersebut. (2) Tingkat keasaman pada madu. Madu memiliki pH rata-rata 3,9 dengan rentang antara 3,4-6,1. Asam glukonik merupakan yang paling mendominasi. Asam ini merupakan hasil perubahan enzimatis glukosa oleh enzim glukosa oksidase, yang diekskresikan oleh lebah pada kelenjar hipofaring lebah. Asam glukonik ini berfungsi sebagai anti bakteri pada madu. Selain itu juga terdapat inhibine, yang dinyatakan sebagai bentuk enzim dan akumulasi dari hydrogen peroksida (H₂O₂) dalam mencairkan madu dan nektar. Hydrogen peroksida telah dikenal sebagai antibiotik yang efektif. Peroksida adalah komponen utama dari beberapa penicilin seperti notatin. (3) kandungan flavonoid. Flavonoid dalam madu merupakan turunan dari senyawa fenol. Senyawa flavonid yang merupakan senyawa fenol berinteraksi dengan bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hydrogen. Pada kadar terendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah serta segera mengalami penguraian diikuti penetrasi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran sitoplasma mengalami lisis. Mekanisme kerja fenol sebagai disinfektan yaitu dalam kadar 0,01% -1% fenol bersifat

bakteriostatik. Peranan flavonoid sebagai antibakteri merupakan kelompok fenol yang mempunyai kecenderungan menghambat aktifitas enzim mikroba, yang pada akhirnya mengganggu proses metabolisme.^{7,8}

Adapun jenis-jenis flavonoid yaitu apigenin, galangin, pinocembrin, ponciretin, genkwanin, sophoraflavonone G dan derivatnya, nagirin, naginerin, epigallocatechin gallate dan derivatnya, luteolin, luteolin 7-glucoside, quercetin, 3-o-methylquertin, quertin glycosides, kaemferol dan derivatnya,. Jenis flavonoid lainnya adalah flavon glycosides, isoflavones, flavonones, isoflavonones, flavonols, flavonols, flavonol glycosides dan chalcones.⁷

Mekanisme kerja flavonoid juga dapat merusak membran sel dengan cara menghambat sintesis molekul. Flavonoid juga dapat mendepolarisasi membran sel dan menghambat siklus DNA, RNA maupun protein yang sudah diobservasi pada *S. Aureus*. Selain itu flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi sitoplasma dan menghambat metabolisme energi pada bakteri. ^{7,8,9}

Maka berdasarkan hasil penelitian ini, maka didapatkan bahwa varian konsentrasi madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypii* dengan varian konsentrasi yang digunakan. Akan tetapi zona hambat yang terbentuk tidak lebih besar/ lebih luas dari pada kontrol positif (kloramfenikol 500 mg). Serta adapun varian konsentrasi madu yang paling efektif adalah berbanding lurus dengan semakin besarnya konsentrasi maka semakin besar pula zona hambat/ zona bening yang terbentuk.

KESIMPULAN

Madu memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypii* secara *in vitro* dan Zona hambat minimal (ZHM) bersifat sensitif terhadap bakteri *Salmonella thypii*.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO (World Health Organization). Background Doc : The diagnosis, treatment and prevention of thypoid fever 2003. Geneva. Swizerland.
 2. Darmawardono, W. 2006. Demam Tifoid : Buku Ajar Ilmu Kesehatan Anak : Infeksi dan penyakit tropis, Edisi 1. Jakarta. BP FK-UI.
 3. Depkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013. Bdan penelitian dan pengembangan Kesehatan kementerian kesehatan: Jakarta.
 4. Departemen Agama RI. 2014. Kitab suci, Al-Quran dan terjemahan. Jakarta
 5. White, JW. 1975. Antibiotic System in Honeys Nectar and Pullen Cornell. University press, Ithaca and London .
 6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2006. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement.M100-S16 Vol.26.
 7. Sihombing DTH. Ilmu Ternak Lebah Madu University Press, Yogyakarta.1997.
 8. Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R & Gallmann P, 2008. Honey for nutrition and health. *Am Coll Nutr*, Issue 27.
- Argnessio, TR dan AR Navaro.1975. Microbiology of repening Honey, J. App. Miceohol Vo.30 (6). The Amrican society of Microbiology.