

# UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MADU HUTAN TERHADAP BAKTERI *Bacillus cereus*

## FOREST HONEY ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *Bacillus cereus*

<sup>1\*</sup>Supartiningsih, <sup>1</sup>Jon Kennedy Marpaung, <sup>1</sup>Yosy Cinthya Eriwaty Silalahi, <sup>2</sup>Icha Wahyuni Turnip

<sup>1</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: ningsih.ndy@gmail.com

**Abstrak.** Madu merupakan cairan kental manis yang berasal dari lebah yang dapat menyembuhkan banyak penyakit dan bersifat sebagai antibakteri. Daya antibakteri madu disebabkan karena adanya kandungan senyawa aktif, kadar air yang rendah, osmolaritas yang tinggi, kandungan hidrogen peroksida, serta pH yang rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri madu hutan yang diperoleh dari desa Doloksaribu, Kabupaten Simalungun terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Metode penelitian eksperimen meliputi analisis kualitas madu, meliputi pemeriksaan kadar air, kadar abu pada madu, pemeriksaan pH madu, keasaman, viskositas, berat jenis, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi kertas cakram dengan masing-masing konsentrasi 25%, 35%, 45%, 55%, dan 65%, kontrol positif menggunakan eritromisin, dan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Uji organoleptis yang dilakukan terhadap sampel madu hutan memberikan hasil yang memenuhi persyaratan mutu madu yang baik. Hasil pemeriksaan kadar air, kadar abu, pemeriksaan pH, keasaman, viskositas, dan berat jenis memenuhi persyaratan SNI 3545:2013 tentang madu. Uji aktivitas antibakteri madu hutan dengan konsentrasi 25%, 35%, 45%, 55%, dan 65% terhadap *Bacillus cereus* menunjukkan adanya daya hambat disekitar kertas cakram, yaitu 10,16 mm, 13 mm, 15,6 mm, 21,6 mm, dan 22,6 mm. Daya hambat terbesar madu hutan terjadi pada konsentrasi tertinggi, yaitu 65% (22,6 mm).

**Kata kunci :** Aktivitas Antibakteri, *Bacillus cereus*, Madu Hutan

**Abstract.** Honey is a thick sweet liquid which comes from bees which can cure many diseases and is antibacterial. Antibacterial potential of honey caused by the content of active compounds, low moisture content, high osmolarity, hydrogen peroxide content, and low pH. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of forest honey on Doloksaribu, Simalungun district on the growth of *Bacillus cereus* bacteria. Experiment research method includes the analysis quality of honey, includes checking moisture content, ash content, pH tested, acidity, viscosity, specific gravity phytochemical screening, and antibacterial activity test with disk diffusion method use blank disk with each concentration 25%, 35%, 45%, 55%, and 65%, positive control using erythromycin and negative control sterile distilled water. Organoleptic test conducted on forest honey gave results that honey reach the requirements for good quality. The result of moisture and ash content test and pH test reach of SNI 3545: 2013 about honey. Antibacterial activity test of forest honey with concentration 25%, 35%, 45%, 55%, and 65% against *Bacillus cereus* showed that there was an inhibitory around the blank disc, namely 10,16 mm, 13 mm, 15,6 mm, 21,6 mm, and 22,6 mm. The greatest inhibition of forest honey occurred at the highest concentration that is 65% (22,6 mm).

**Keywords :** Antibacterial Activity, *Bacillus cereus*, Forest Honey

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri. Penyakit ini merupakan penyakit yang banyak ditemukan dalam masyarakat. Penyakit infeksi ini menjadi penyebab kematian terbesar pada kalangan anak-anak dan dewasa dengan jumlah kematian lebih dari 13 juta jiwa setiap tahun, dan satu dari dua kematian sering terjadi di negara berkembang, salah satunya adalah negara Indonesia [1]. Salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi tersebut adalah bakteri *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menyebabkan keracunan dengan gejala muntah dan diare. *Bacillus cereus* tersebar luas di alam, dengan spora yang lebih tahan terhadap stres lingkungan daripada sel vegetatifnya [2]. *Bacillus*

*cereus* pada makanan dan susu mentah masih mampu bertahan selama proses pengolahan karena sporanya tahan terhadap panas dan pemasakan biasa [3]. Penanganan medis terhadap penyakit infeksi biasanya dengan mengonsumsi obat yang mengandung antibiotik yang tepat dan penanganan antiseptik secara benar. Namun, penggunaan obat antibiotik dalam jangka panjang dapat menimbulkan masalah baru bagi kesehatan seperti gangguan fungsi hati, penurunan jumlah sel darah putih, timbulnya alergi dan juga dapat menimbulkan resistensi sehingga pengobatan penyakit memerlukan dosis antibiotik yang lebih tinggi [4]. Oleh karena itu, dibutuhkan antibakteri yang tidak hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi juga yang tidak berdampak buruk bagi kesehatan yaitu dengan menggunakan bahan alam. Salah satunya yaitu dengan pemberian madu. Madu merupakan cairan kental berasa manis yang dihasilkan oleh lebahmadu dari nektar bunga dan diduga berkhasiat untuk menyembuhkan banyak penyakit, seperti penyakit saluran pencernaan, lambung, penyakit kulit, infeksi saluran pernapasan akut, dan batuk, serta gangguan mata [5]. Madu juga memiliki efek antibakteri sehingga banyak dipakai untuk mengobati luka dan mempercepat penyembuhan [6]. Madu dianggap mempunyai efek antibakteri dan antiradang yang membantu penyembuhan dinding usus akibat infeksi mikroorganisme. Kemampuan madu sebagai antibakteri diduga mempunyai osmolaritas yang tinggi, kandungan hidrogen peroksida, pH yang rendah, aktivitas air yang rendah [7]. Penelitian selanjutnya tentang aktivitas antibakteri madu murni Kalimantan Barat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi agar. Pada penelitian ini dilakukan juga pengujian analisis kualitas madu yang menunjukkan bahwa madu memenuhi standar SNI dan memiliki kualitas baik. Pada uji aktivitas antibakteri madu menunjukkan bahwa madu hanya menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, namun pada *Escherichia coli* tidak menunjukkan hasil aktivitas antibakteri. Hasil yang ditunjukkan pada *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 40% (27,3 mm), pada konsentrasi 30% (20,5 mm), pada konsentrasi 20% (17,4 mm), dan pada konsentrasi 10% (9,7 mm). Pada penelitian ini juga dijelaskan bahwa Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada madu Kalimantan Barat dapat berpengaruh terhadap bakteri [8].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Organoleptis

Beberapa parameter standar yang dilakukan terhadap madu hutan untuk mengetahui kualitas madu, meliputi uji bau, rasa dan warna. Berdasarkan SNI (2013), madu hutan ini sudah memenuhi syarat yaitu madu memiliki rasa manis khas madu dan sedikit rasa asam, rasa asam tersebut dapat mempengaruhi khasiat madu sebagai antibakteri, karena menurut Puspitasari [7], asam pada madu merupakan penghambat efektif terhadap pertumbuhan bakteri. Pada pemeriksaan warna, madu memiliki warna coklat bening.

**Tabel 1.** Hasil Uji Organoleptis Madu

No	Parameter	Syarat SNI	Hasil
1	Rasa	Manis khas Madu	Khas Madu (Manis, sedikit rasa asam)
2	Bau	Khas Madu	Khas Madu
3	Warna	Bening-Hitam	Coklat Bening

### Hasil Analisis Kualitas Madu

Hasil beberapa analisis kualitas madu hutan yang diperoleh dari desa Doloksaribu dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil Analisis Kualitas Madu

No	Parameter	Syarat SNI	Hasil
1	Kadar Air	Maks 22%	9,78%
2	Kadar Abu	Maks 0,5%	0,07%
3	pH	3,2-4,5	4,00
4	Keasaman	50 ml NaOH 1 N/kg	42,3
5	Viskositas	10,7 poise	6,2 poise
6	Berats	1,354-1,416 g/ ml	1,3569 g/ ml

Hasil uji kadar air tercantum pada tabel 2. Berdasarkan Badan Standarisasi Nasional (2013), syarat kadar air dalam madu maksimal 22% (b/b). Kadar air sampel madu hutan yang diperoleh dari desa Doloksaribu adalah 9,78%, sehingga dapat dinyatakan sampel memenuhi persyaratan batas kadar air. Kadar air pada madu dapat dipengaruhi oleh kelembaban udara. Suhu di desa Doloksaribu, Kabupaten Simalungun berkisar antara 20-30°C menunjukkan bahwa desa Doloksaribu umumnya memiliki hawa yang dingin dan sejuk. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan madu mudah mencair. Sementara itu, jika suhu rendah maka kadar air rendah sehingga madu akan terhindar dari kerusakan untuk jangka waktu penyimpanan yang relatif lama serta untuk meminimalisir keberadaan mikroba dalam madu [9]. Hasil uji kadar abu sampel madu hutan desa Doloksaribu menunjukkan sampel memenuhi persyaratan Badan Standar Nasional (2013). Berdasarkan hasil yang tercantum pada tabel 2 hasil uji kadar abu pada sampel adalah 0,07%. Batas maksimal kadar abu adalah 0,5% (b/b) yang artinya terdapat 0,5 g abu dalam 100 g madu. Pemeriksaan pH sampel madu pada penelitian ini adalah 4,00. Dengan keasaman yang tinggi pada madu, jumlah konsentrasi ion hidrogen juga akan meningkat, hal ini akan dapat mengganggu gradien transmembran proton dari sel bakteri. pH pada sampel madu telah memenuhi persyaratan mutu madu yang ditetapkan oleh SNI, yaitu berkisar dari 3,2 sampai 4,5 sehingga akan menghambat metabolisme bakteri Gram negatif dan Gram positif. Dengan menghambat metabolisme bakteri akan mengalami lisis. Ketika pH turun sampai pada batas terendah untuk pertumbuhan bakteri, tidak hanya sel bakteri yang akan terhenti pertumbuhannya tetapi bakteri juga akan kehilangan kemampuan hidupnya [10]. Keasaman madu merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas madu. Kadar keasaman ini menunjukkan jumlah asam bebas per kg madu. Semakin meningkatnya kadar keasaman merupakan suatu indikator telah terjadinya proses fermentasi dan proses transformasi alkohol menjadi asam organik [11]. Pada penelitian ini diperoleh data keasaman untuk sampel madu hutan yang diperoleh dari desa Doloksaribu menunjukkan bahwa madu memenuhi persyaratan Standar Nasional Indonesia yaitu maksimal 50 ml NaOH 1 N/kg. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah 42,35 ml NaOH 1 N/kg. Hasil ini menunjukkan bahwa madu hutan memenuhi syarat Standar Nasional Indonesia (2013). Pada pemeriksaan viskositas (kekentalan) madu pada penelitian ini hasil yang diperoleh adalah sebesar 6,2 poise. Hasil ini menunjukkan bahwa madu belum memenuhi persyaratan viskositas Standar Nasional Indonesia, yaitu 10,7 poise. Kekentalan madu dapat dipengaruhi oleh suhu. Suhu yang rendah akan meningkatkan viskositas madu, sedangkan suhu yang tinggi menyebabkan viskositas menjadi rendah dan karakteristik madu menjadi lebih encer. Pada penelitian ini, madu yang digunakan disimpan dalam ruangan yang memiliki suhu tinggi yang mungkin menyebabkan kekentalan madu menjadi rendah pada saat dilakukan pemeriksaan viskositas. Massa jenis madu diukur menggunakan alat piknometer. Hasil yang diperoleh yaitu 1,3569 g/ml. Hasil ini menunjukkan bahwa madu memenuhi syarat Standar Nasional Indonesia (2013).

### Hasil Skrining Fitokimia Madu

Skrining fitokimia terhadap madu dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya.

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia Madu

No	Skrining	Pereaksi	Hasil
1	Alkaloid	Mayer Dragendorff	- -
2	Saponin	Akuades	+
3	Flavonoid	Mg + Etanol 96%	+
4	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	-

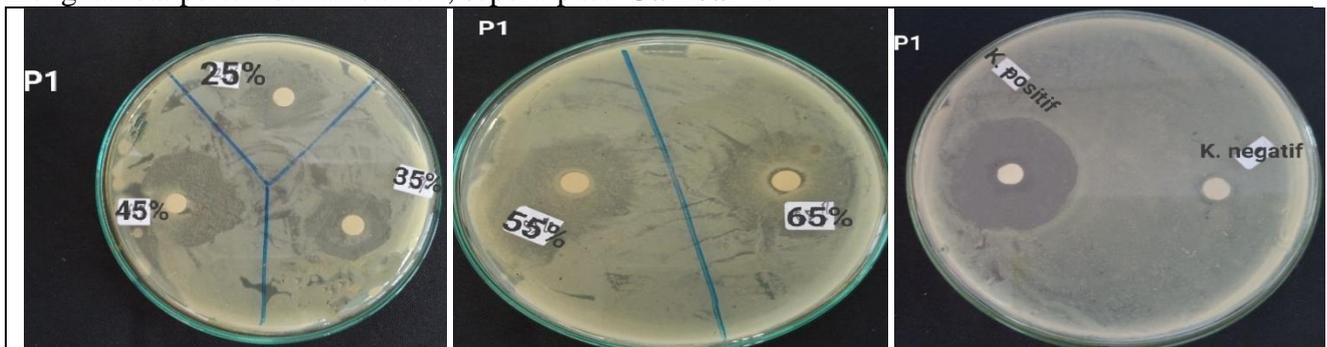
Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa

(-) = tidak mengandung golongan senyawa

Sesuai penelitian yang telah dilakukan oleh Sun [12] bahwa madu memiliki senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Berdasarkan **Tabel 3** Hasil yang diperoleh dari skrining fitokimia pada penelitian ini menunjukkan senyawa flavonoid positif karena menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah bata. Pada pegujian flavonoid positif pada penelitian ini karena serbuk magnesium memberikan reaksi reduksi senyawa flavonoid sehingga larutan uji memberikan perubahan warna. Saponin positif karena terbentuknya busa yang tidak hilang selama 30 detik. Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofilik dan hidrofob. Saponin pada saat dikocok membentuk buih karena adanya gugus hidrofil karena adanya gugus hidrofil yang berikatan dengan air sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara. Hasil positif maka penambahan HCl 2N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi lebih stabil. Sedangkan senyawa alkaloid negatif karena tidak menunjukkan adanya perubahan menjadi warna hijaudan tanin negatif karena tidak terjadi perubahan warna menjadi biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan. Pada pengujian alkaloid dilakukan penambahan HCl sebelum ditambahkan pereaksi karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam. Pada pengujian alkaloid diperoleh hasil negatif baik uji Mayer dan Dragendorff karena madu hutan yang diperoleh dari desa Doloksaribu ini tidak memiliki alkaloid dimana nitrogen tidak digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $K^+$  yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan jingga [13]. Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri dibedakan menjadi 3, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Pada saat menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkalisasi atau ikatan hidrogen yakni dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Pada saat menghambat fungsi membran sel flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran sel akan rusak dan senyawa intraseluler akan keluar. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi dengan penggunaan oksigen oleh bakteri, yaitu dengan mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya sel membran ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida.

### Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa sampel madu hutan desa Doloksaribu mampu membentuk zona bening di sekitar kertas cakram pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah ditanami bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah Eritromisin yang dapat menghentikan pertumbuhan bakteri uji dan kontrol negatif menggunakan akuades steril yang tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri, seperti pada **Gambar 1**.

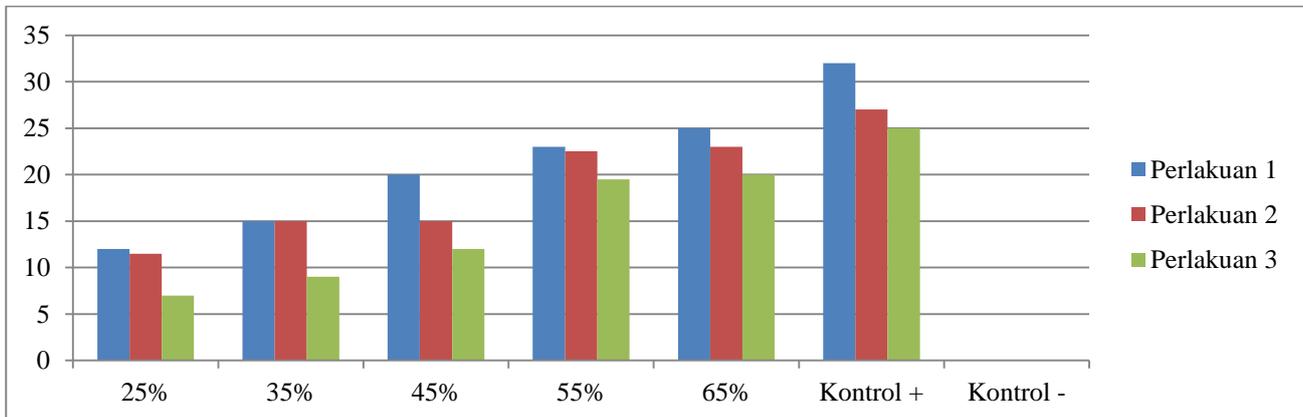


**Gambar 1** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Madu Hutan Terhadap *Bacillus cereus*

**Tabel 4.** Data Pengukuran Diameter Zona Hambat Madu Hutan Terhadap *Bacillus cereus*

No	Konsentrasi	Perlakuan (ulangan)			Rata-rata (mm)
		I	II	III	
1	25%	12	11,5	7	10,16
2	35%	15	15	9	13
3	45%	20	15	12	15,6
4	55%	23	22,5	19,5	21,6
5	65%	25	23	20	22,6
6	Eritromisin	32	27	25	28
7	Akuades	0	0	0	0

**Tabel 4** menunjukkan rata-rata diameter zona hambat madu hutan terhadap bakteri *Bacillus cereus* dengan menggunakan konsentrasi mulai dari 25%, 35%, 45%, 55%, dan 65%. Pada konsentrasi 25% zona hambat yang terbentuk adalah 10,16 mm, pada konsentrasi 35% zona hambat yang terbentuk adalah 13 mm, pada konsentrasi 45% zona hambat yang terbentuk adalah 15,6 mm, pada konsentrasi 55% zona hambat yang terbentuk adalah 21,6 mm, dan pada konsentrasi 65% zona hambat yang terbentuk adalah 22,6 mm. Konsentrasi 65% memiliki daya hambat paling tinggi, yaitu sebesar 22,6 mm. Grafik zona hambat madu hutan terhadap bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada **Gambar 2**.

**Gambar 2.** Grafik zona hambat madu hutan terhadap bakteri *Bacillus cereus*

**Gambar 2** memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu maka semakin tinggi zona hambat yang terbentuk. Terdapat juga perbedaan zona hambat yang dihasilkan antara perlakuan 1, 2, dan 3. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor menurut Maharti, (2010) diantaranya stabilitas zat aktif dari tanaman tersebut, besarnya inokulum, masa inkubasi, dan aktivitas metabolik bakteri. Perbedaan juga dapat dimungkinkan karena media yang digunakan sebagai uji aktivitas antibakteri dapat mempengaruhi hasil diameter zona hambat (Kusumawati, *et al*, 2017). Ketebalan media pada penelitian ini adalah 0,1 cm. Tetapi kemungkinan pada saat pemipetan media terjadi perbedaan volume media yang dipipet, sehingga menyebabkan ketebalan yang berbeda. Media yang lebih tebal menyebabkan senyawa aktif dalam madu sulit berdifusi sehingga kurang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Farmakope Edisi IV (1995) syarat daya hambat efektif apabila menghasilkan batas daerah hambat dengan diameter lebih kurang 14 mm sampai 16 mm. Menurut (Fatmawati dan Wiyono, 2012), kriteria kekuatan daya hambat antibakteri, yaitu: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm dikategorikan sangat kuat. Jadi hasil pengukuran pada penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri madu terhadap *Bacillus cereus* dengan konsentrasi 25% (10,16 mm), konsentrasi 35% (13 mm), konsentrasi 45% (15,6 mm) tergolong kedalam kategori kuat. Sedangkan pada konsentrasi 55% (21,6 mm) dan konsentrasi 65% (22,6 mm) tergolong kategori sangat kuat. Pada penelitian ini aktivitas antibakteri ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor antibakteri yang terdapat didalamnya. Yang pertama adalah kandungan senyawa kimia, yaitu saponin dan flavonoid. Yang kedua adalah

dipengaruhi oleh konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi madu maka akan semakin tinggi kemampuan daya hambat terhadap bakteri, hal tersebut dikarenakan semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin banyak senyawa aktif dalam madu sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri akan semakin meningkat. Faktor yang ketiga adalah pH madu yang bersifat asam, yaitu 4,00. Menurut persyaratan yang telah ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (2013) yaitu berkisar antara 3,2-4,5 sehingga bakteri mudah mengalami lisis. Penelitian yang telah dilakukan oleh [12] dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10% dan menggunakan streptomisin sebagai kontrol positif serta akuades steril sebagai kontrol negatif. Hasil yang diperoleh adalah larutan madu hutan menunjukkan adanya daya hambat yang ditimbulkan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Pada penelitian ini juga dilakukan analisis fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa aktif berupa tanin, saponin dan flavonoid. Adanya kandungan senyawa tersebut dapat memungkinkan efek madu hutan mempunyai efek antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Madu juga memiliki aktivitas antibakteri karena madu mempunyai kadar air yang rendah, bakteri tidak akan tumbuh pada media yang memiliki aktivitas air yang rendah. Pada penelitian ini juga menunjukkan bahwa perbedaan Gram bakteri juga mempengaruhi daya hambat madu terhadap suatu bakteri. Struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana memudahkan senyawa antibakteri lebih mudah untuk masuk kedalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Sedangkan dinding sel yang kompleks menimbulkan hambatan bagi senyawa bioaktif seperti madu untuk menembus membran sel bakteri. Sehingga pada penelitian ini *Escherichia coli* (Gram negatif) kurang peka dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* (Gram positif) [14].

## KESIMPULAN

Madu memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Besar zona hambat terkecil adalah pada konsentrasi 25% (10,16 mm), sedangkan zona hambat terbesar adalah pada konsentrasi 65% (22,6 mm). Konsentrasi mempengaruhi besar aktivitas antibakteri madu hutan terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus*. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar daya hambat yang terbentuk, karena semakin tinggi konsentrasi maka kandungan senyawa kimia yang terdapat pada madu juga semakin besar.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. (1999). *Infections Diseases are The Biggest Killer of The Young*.
- [2] Botone, E. J. (2010). *Bacillus cereus, A Volatile Human Pathogen*. *Journal of Clinical Microbiology Reviews*, Vol.23.
- [3] Purwanti, M., Sudarwanto, M., Rahayu, W. P., & Sanjaya, A. W. (2010). *Pertumbuhan Bacillus cereus dan Clostridium Balita Penderita Gizi Buruk perfringens pada Makanan Tambahan Pemulihan yang Dikonsumsi*. *Jurnal Forum Pascasarjana*, Vol.31 No.4.
- [4] Haryadi, E. (2012). *Waspada Efek Samping Menggunakan Antibiotik!*. <http://www.deherba.com/perhatikan-efek-samping-menggunakan-antibiotik.html>.
- [5] Abubecker, M.N and T. Deepalaksahami. (2013). *In Vitro Antifungal Potentials of Bioactive Compound Methyl Ester of Hexadecanoic Acid Isolated From Annona muricata Linn. Leaves*. *Biosciences Biotechnology Research Asia* 10 (2): 879-884
- [6] Suranto. (2008). *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. Jakarta: AgroMedia Pustaka. Hal: 19-92
- [7] Puspitasari, I. (2007). *Rahasia Sehat Madu*. B first. Yogyakarta. Hal 1-43
- [8] Suryana, S. (2016). *Aktivitas Antibakteri Madu Murni Kalimantan Barat Terhadap Bakteri Escherichia coli Dan Staphylococcus aureus Dengan Metode Difusi Agar*. *Jurnal Farmako Bahari*, 31-36.
- [9] Hilmanto, R. (2010). *Analisis Paket Teknologi Lokal Dalam Pengelolaan Produksi Madu Organik Untuk Pasar Global Dan Industri*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. ISSN 0853-4217
- [10] Ray B. (2001). *Fundamental Food Microbiology, 2nd edition*, Boca Raton, Fla: CRC Press.
- [11] Wulandari, D.D. (2017). *Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan*. *Jurnal Kimia Riset*, Volume 2 No.1

- [12] Sun, D. M., Desi Indria Rini, & Rr. Listyawati Nurina. (2019). *Uji Aktivitas Antibakteri Larutan Madu Hutan Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli Secara In Vitro*. *Cendana Medical Journal*.
- [13] Marlina, dkk. (2012). *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. *Biofarmasi*, 26-31.
- [14] Elizza, N. (2010). *Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.