

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI LARUTAN MADU HUTAN TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Diana Maximiliany Sun, Desi Indria Rini, Rr. Listyawati Nurina

ABSTRAK

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, salah satunya bakteri *Escherichia coli*. Antibiotik merupakan satu zat yang dapat menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme. Madu (*Mel*) merupakan substansi alam yang diproduksi oleh lebah madu yang berasal dari nektar bunga atau sekret tanaman dan memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Daya antibakteri madu disebabkan karena adanya kandungan senyawa aktif, hidrogen peroksida, osmolaritas yang tinggi, serta pH yang rendah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri larutan madu hutan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *In vitro*. Metode penelitian ini eksperimental *in vitro* dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram yang direndam dalam konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, kontrol positif menggunakan streptomisin, dan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Pengulangan dilakukan 3 kali dan hasil dibaca setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasil analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara tiap kelompok terhadap zona hambat yang terbentuk dengan nilai $p = 0,002$. Analisis *post hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok yang memiliki perbedaan potensi daya hambat. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa larutan madu hutan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

Kata kunci : *Escherichia coli*, Antibakteri, Madu hutan

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, jamur, virus, dan parasit⁽¹⁾. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Salah satu yang paling sering dijumpai pada manusia adalah bakteri *Escherichia coli*⁽²⁾. *Escherichia coli* merupakan anggota flora normal dari usus, namun pada kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi usus dengan gejala diare karena daya penetrasi yang merusak sel mukosa, kemampuan memproduksi toksin yang mempengaruhi sekresi cairan di usus, serta meningkatkan daya lekat kuman⁽³⁾.

Diare adalah gangguan buang air besar (BAB) yang ditandai dengan BAB lebih dari 3 kali sehari dengan konsistensi tinja cair, dapat disertai dengan darah dan atau lendir⁽⁴⁾. Penyakit Diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga

merupakan penyakit potensial KLB yang sering disertai kematian. Menurut hasil Riskesdas 2007, diare merupakan penyebab kematian nomor satu pada bayi sebanyak 31,4% dan pada balita sebanyak 25,2%, sedangkan pada golongan semua umur merupakan penyebab kematian yang keempat sebanyak 13,2%. Pada tahun 2012, angka kesakitan diare pada semua umur sebanyak 214 per 1.000 penduduk dan angka kesakitan diare pada balita sebanyak 900 per 1000 penduduk⁽⁵⁾.

Berdasarkan hasil riset kesehatan dasar tahun 2013 di Indonesia, insiden diare berdasarkan gejala sebesar 3,5% dan insiden diare pada balita sebesar 6,7% dan *period prevalence* diare sebesar 7%. Insiden diare di Provinsi Nusa Tenggara Timur tahun 2013 adalah 4,3%, pada balita sebesar 6,7% dan *period prevalence* diare sebesar 10,9%⁽⁴⁾. Pada tahun 2014 terjadi 6 KLB diare yang tersebar di lima provinsi, enam kabupaten/kota, dengan

jumlah penderita sebanyak 2.549 orang dan jumlah kematian sebanyak 29 orang. Kabupaten Timor Tengah Selatan Provinsi Nusa Tenggara Timur merupakan salah satu daerah di dalamnya dengan jumlah kasus sebanyak 2.089 orang dengan jumlah kematian sebanyak 23 orang⁽⁵⁾. Berdasarkan data dan informasi profil kesehatan Indonesia tahun 2017, perkiraan diare di fasilitas kesehatan di Indonesia sebanyak 7.077.299 jiwa dan yang ditangani sebanyak 4.274.790 jiwa atau sebesar 60,4%. Perkiraan diare di fasilitas kesehatan tahun 2017 di Provinsi Nusa Tenggara Timur sebanyak 142.757 jiwa dan yang ditangani sebanyak 46.097 jiwa atau sebesar 32,3%⁽⁶⁾.

Berbagai macam obat telah dibuat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit infeksi, baik yang terbuat dari bahan kimia maupun bahan alam. Obat tersebut dikenal sebagai Antibiotik. Antibiotik merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme. Kemampuan antibiotik dalam mengatasi maupun mencegah penyakit infeksi menyebabkan penggunaannya mengalami peningkatan. Antibiotik digunakan secara tidak tepat atau tidak rasional untuk penyakit yang tidak perlu dan terdapat kecenderungan untuk membeli antibiotik secara bebas atau tanpa resep dokter. Akibatnya terjadi perkembangan bakteri yang resisten terhadap antibiotik^(2,7).

Adanya resistensi antibiotik ini maka kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain meningkat, seperti antibiotik yang berasal dari bahan alam. Madu merupakan substansi alam yang diproduksi oleh lebah madu yang berasal dari nektar bunga atau sekret tanaman yang dikumpulkan oleh lebah madu, diubah dan disimpan di dalam sarang lebah untuk dimatangkan. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3545-2004, madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman

(flora nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra flora nektar) atau ekskresi serangga. Madu dikenal sebagai cairan yang menyehatkan dan berkhasiat. Khasiat dari madu diperkenalkan pertama kali oleh Hippocrates (460 SM-370 SM) yang memanfaatkan madu sebagai ekspektoran dan pembersih luka pada kulit maupun bisul^(8,9).

Madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri baik yang berasal dari gram positif maupun gram negatif⁽³⁾. Daya antibakteri madu disebabkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid, hidrogen peroksida, osmolaritas yang tinggi, serta pH yang rendah sehingga tingkat keasaman madu menjadi tinggi⁽⁸⁻¹⁰⁾. Selain sebagai antibiotik dan penyembuhan luka, madu juga bermanfaat sebagai antioksidan, dapat digunakan sebagai campuran bahan pangan, sumber energi dan nutrisi⁽¹¹⁾.

Melihat berbagai manfaat yang diperoleh dari madu, maka seharusnya masyarakat Indonesia mengonsumsi madu secara teratur untuk menjaga kesehatan. Berdasarkan data dari Dirjen BPDASPS tahun 2013, tingkat konsumsi madu perkapita masyarakat Indonesia hanya berkisar antara 10 sampai dengan 15 gram per orang per tahun, setara dengan satu sendok makan per orang per tahun. Dibandingkan dengan negara lain seperti Jepang, tingkat konsumsi madu perkapita sebanyak 1200 gram per orang per tahun dan di Australia sebanyak 1500 gram per orang per tahun. Disini terlihat jelas bahwa tingkat konsumsi madu masyarakat Indonesia masih sangat rendah, padahal luas hutan mencapai 136,88 juta ha yang diperkirakan rata-rata produksi madu seluruh Indonesia sekitar 4000 ton pertahun⁽¹²⁾.

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antibakteri Larutan Madu Hutan terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *In Vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode yang digunakan adalah metode difusi agar menggunakan kertas cakram dan rancangan penelitian yang digunakan yakni *Posttest Only Control Group Design*. Penelitian dimulai pada tanggal 1 Agustus – 10 September 2018, di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dan diidentifikasi dari Laboratorium BPOM Kota Kupang. Dalam penelitian ini digunakan 8 kelompok perlakuan, yaitu kelompok perlakuan pemberian larutan madu hutan dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, kontrol negatif menggunakan aquadest steril dan kontrol positif menggunakan streptomisin, dengan tiga kali pengulangan yang ditentukan melalui rumus Federer.

Cara kerja

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia adalah suatu skrining yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti⁽¹³⁾. Metode analisis fitokimia ini dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna.

Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 3 ml diletakan dalam cawan porselin kemudian ditambahkan 5 ml HCL 2 M, diaduk dan kemudian didinginkan pada temperatur ruangan. Setelah sampel dingin ditambahkan 0,5 g NaCl lalu diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCL 2 M sebanyak 3 tetes, kemudian dipisahkan menjadi 4 bagian A,

B, C, D. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan pereaksi Mayer, filtrat C ditambahkan pereaksi Wagner, sedangkan filtrat D digunakan untuk uji penegasan. Apabila terbentuk endapan pada penambahan pereaksi Mayer dan Wagner maka identifikasi menunjukkan adanya alkaloid. Uji penegasan dilakukan dengan menambahkan ammonia 25% pada filtrat D hingga pH 8-9. Kemudian ditambahkan kloroform, dan diuapkan diatas waterbath. Selanjutnya ditambahkan HCl 2M, diaduk dan disaring. Filtratnya dibagi menjadi 3 bagian. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B diuji dengan pereaksi Mayer, sedangkan filtrat C diuji dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid^(14,15).

Uji Saponin

Sampel 2 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml akuades lalu dikocok selama 30 detik, lalu amati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin. Uji penegasan saponin dilakukan dengan menguapkan sampel sampai kering kemudian mencucinya dengan heksana sampai filtrat jernih. Residu yang tertinggal ditambahkan kloroform, lalu diaduk 5 menit, kemudian ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian yakni A dan B. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditetesi anhidrat asetat, lalu diaduk perlahan, kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat dan diaduk kembali. Terbentuknya cincin merah sampai coklat menunjukkan adanya saponin^(14,15).

Uji Flavonoid

Sebanyak 3 ml sampel diuapkan, dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 ml etanol kemudian disaring. Filtrat dibagi 3 bagian yakni A, B, dan C. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan 0,5 ml HCl pekat kemudian dipanaskan pada penangas

air. Jika terjadi perubahan warna merah tua sampai ungu, menunjukkan hasil yang positif (metode Bate Smith-Metchalf). Filtrat C ditambahkan 0,5 ml HCl dan logam Mg kemudian diamati perubahan warna yang terjadi (metode Wilstater). Warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida^(14,15).

Uji Tanin

Sebanyak 3 ml sampel diekstraksi akuades panas kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Filtrat dibagi 3 bagian A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko, filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃, dan filtrat C ditambahkan garam gelatin. Kemudian diamati perubahan yang terjadi. Jika terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin^(14,15).

Sterilisasi alat

Semua alat yang akan digunakan dalam penelitian ini dibersihkan lalu dibungkus dengan kertas aluminium foil. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf menggunakan suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan media nutrient agar

Pembuatan medium *nutrient agar*, yakni dengan melarutkan 10 gram *nutrient agar* ke dalam 500 ml aquadest di dalam labu erlenmayer lalu di aduk menggunakan *stirrer* dan dipanaskan sampai mendidih selama kurang lebih 10 menit. Kemudian dilakukan sterilisasi di dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu menuangkan *nutrient agar* tersebut ke dalam cawan petri sebanyak 10-20 ml, dan biarkan sampai memadat atau mengeras.

Kultur bakteri

Biakan murni bakteri *Escherichia coli* digoreskan dengan ose pada *nutrient agar* secara aseptis lalu cawan petri ditutup. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pembuatan variabel konsentrasi larutan madu hutan

Larutan madu hutan pertama-tama dalam konsentrasi 100 %. Setelah itu, dari konsentrasi 100 % diencerkan dengan aquades dan dibuat menjadi beberapa konsentrasi yakni 80%, 60%, 40%, 20%, dan 10% secara manual dengan menggunakan rumus $M1 \times V1 = M2 \times V2$. Lalu semua larutan madu hutan dengan berbagai konsentrasi tersebut ditutup dengan aluminium foil agar tetap steril dan tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme lainnya.

Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Escherichia coli* sudah dibiakan diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 *McFarland* atau sebanding dengan jumlah bakteri 10⁸(CFU/ml). Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu : 10⁵-10⁸ CFU/ml.

Pembuatan media uji

25 gram *nutrient agar* ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmayer dan dilarutkan menggunakan aquades steril sebanyak 1.250 ml. Agar tersebut kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai bahan larut dengan sempurna. Kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°C.

Pengujian aktivitas antibakteri

Media nutrien agar sebanyak 20 ml dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan

memadat kemudian dimasukkan 1 ml suspensi bakteri *Escherichia coli* dan biakan bakteri tersebut diratakan menggunakan kapas lidi steril agar suspensi bakteri merata pada media dan didiamkan selama 10 menit agar suspensi merata pada media. Kemudian letakan satu buah kertas cakram dengan pinset steril ke dalam cawan petri. Kertas cakram tersebut sebelumnya telah dicelupkan ke dalam larutan madu hutan pada setiap konsentrasi selama 10 menit. Selanjutnya semua media diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengamatan pada cawan petri dan mengukur diameter zona hambat pertumbuhan di sekitar cakram *disc*. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Madu Hutan

Jenis madu yang dipakai dalam penelitian ini adalah Madu (*Mel*) yang diperoleh dari hutan di Kabupaten Manggarai Barat, Flores-Nusa Tenggara Timur.

Hasil Analisis Fitokimia

Hasil uji fitokimia madu hutan menunjukkan bahwa madu hutan positif mengandung saponin dengan intensitas deteksi lemah (+), tannin dengan intensitas deteksi lemah (+), dan flavonoid dengan intensitas deteksi kuat (+++). Uji saponin positif apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik). Uji tanin positif apabila terjadi perubahan warna menjadi biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan. Uji Flavonoid positif apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga, sampai merah tua⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾.

Uji Aktivitas Antibakteri

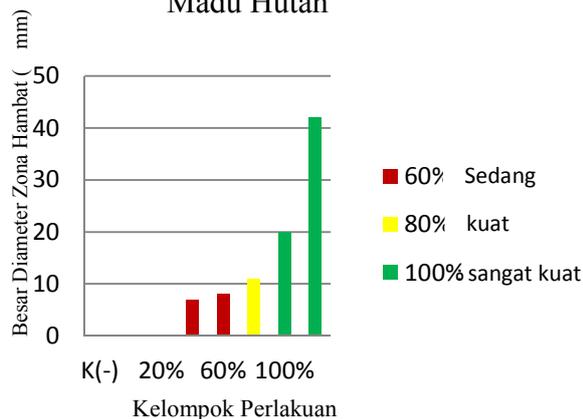
Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Aktivitas antibakteri tersebut kemudian diukur menggunakan jangka sorong.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh berbagai konsentrasi Larutan Madu Hutan terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi Larutan Madu	Diameter Zona Hambat (mm)			
	P1	P2	P3	Rata-rata
100%	23,6	19,8	17,8	20,4
80%	11,8	13,0	9,9	11,5
60%	7,8	7,9	7,8	7,8
40%	6,7	6,7	6,7	6,7
20%	0	0	0	0
10%	0	0	0	0
Kontrol (+)	42	42	42	42
Kontrol (-)	0	0	0	0

Dari data hasil pengukuran pada tabel 4.2 didapatkan rata-rata dari setiap konsentrasi yakni konsentrasi 100% memiliki nilai rata-rata 20,4 mm, konsentrasi 80% memiliki nilai rata-rata, konsentrasi 60% memiliki nilai rata-rata 7,8 mm, konsentrasi 40% memiliki nilai rata-rata 6,7 mm, serta konsentrasi 20% dan 10% memiliki nilai rata-rata 0. Konsentrasi 40% merupakan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan konsentrasi terendah yang rata-rata diameternya 6,7 mm dan konsentrasi 100% merupakan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan rata-rata diameternya 20,4 mm.

Grafik 1. Potensi Antibakteri Larutan Madu Hutan



Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa larutan madu hutan memiliki daya hambat sangat kuat sampai lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penentuan kriteria ini berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971) yakni daerah hambatan ≥ 20 mm tergolong kategori sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm tergolong kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm tergolong kategori sedang, dan daerah hambatan ≤ 5 mm tergolong kategori lemah⁽¹⁶⁾. Berdasarkan kriteria tersebut yang tergambar dalam grafik 1 maka dapat dikatakan bahwa konsentrasi 100% tergolong potensi sangat kuat, konsentrasi 80% tergolong potensi kuat, konsentrasi 60% dan 40% tergolong potensi sedang, serta konsentrasi 20% dan 10% tergolong potensi lemah.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sri Peni.dkk, Misbahul, Dwie Astrini dan Ambarwati, yang juga meneliti tentang uji aktivitas antibakteri madu terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan kesimpulan bahwa madu memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, akan tetapi pada penelitian-penelitian ini ukuran serta potensi zona hambat yang terbentuk berbeda. Hal terjadi karena adanya perbedaan dalam penentuan konsentrasi, jenis madu, dan metode pengujian^(3,17-19).

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi larutan, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi larutan, dan jenis bakteri yang dihambat⁽²⁰⁾. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 40% sampai konsentrasi 100% terdapat aktivitas antibakteri yang dilihat dari terbentuknya zona bening disekitaran disk, sedangkan pada konsentrasi 10 % dan konsentrasi 20% tidak terdapat aktivitas antibakteri. Hal ini disebabkan karena semakin rendah konsentrasi, jumlah senyawa aktif dalam madu semakin sedikit sehingga kemampuan madu dalam menghambat bakteri berkurang. Sebaliknya, semakin tinggi konsentrasi maka jumlah senyawa aktif dalam madu semakin banyak sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri menjadi meningkat.

Berdasarkan hasil analisis fitokimia, ditunjukkan bahwa madu hutan mengandung senyawa aktif berupa tanin, saponin, dan flavonoid. Adanya kandungan senyawa aktif tersebut memungkinkan madu hutan mempunyai efek antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Data hasil pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh, kemudian dilakukan uji statistik untuk melihat nilai signifikansi dari hasil tersebut. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah Uji *Kruskall-Wallis*. Hasil analisis data diperoleh nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 yaitu nilai *p* sebesar 0,002. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara minimal dua kelompok konsentrasi. Setelah dilakukan uji *Kruskal-Wallis*, dilakukan uji lanjutan *post hoc* untuk menilai signifikansi antar kelompok. Uji ini bertujuan untuk melihat lebih jauh kelompok mana yang memiliki signifikansi. Analisis menggunakan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *post hoc* menggunakan uji *Mann-whitney* menunjukkan bahwa antara kelompok konsentrasi 100%, 80%, 60%, dan 40%

memiliki perbedaan yang signifikan yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$. Selain itu antara kelompok konsentrasi 20%, 10%, dan kelompok perlakuan K(-) tidak menunjukkan perbedaan signifikan yang ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$. Kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua kelompok perlakuan mulai dari konsentrasi 100% sampai K(-) dengan nilai $p < 0,05$.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain :

1. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada larutan madu hutan adalah tannin, saponin, dan flavonoid.
2. Besar kadar hambat minimum (KHM) yang dibentuk oleh larutan madu adalah 6,7 mm pada konsentrasi 40%.
3. Besar kadar bunuh minimum (KBM) yang dibentuk oleh larutan madu adalah 20,4 mm pada konsentrasi 100%.
4. Potensi antibakteri larutan madu hutan pada konsentrasi 10% dan 20% tergolong lemah, konsentrasi 40% dan 60% tergolong sedang, konsentrasi 80% tergolong kuat, dan konsentrasi 100% tergolong sangat kuat.
5. Uji statistik *Kruskall Wallis* menunjukkan nilai $p : 0,002$ yakni terdapat perbedaan signifikan dari diameter zona hambat yang terbentuk antar kelompok perlakuan.
6. Uji *post hoc* menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok yang memiliki perbedaan potensi daya hambat yaitu pada kelompok konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40% dan kelompok kontrol positif.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan dari madu hutan yang berperan sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukan uji fitokimia secara kuantitatif untuk mengetahui besar kadar senyawa aktif seperti alkaloid, tannin, saponin dan flavonoid yang terdapat di dalam madu hutan.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan konsentrasi, jenis madu serta jenis bakteri yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Infectious diseases [Internet]. 2018. Available from: http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/
2. Eko Kusumawati, Anita Apriliana Ry. Kemampuan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Atrocarpus heterophyllus Lam.*) terhadap *Escherichia coli*. J Sains dan Kesehatan [Internet]. 2017;1:327–32. Available from: jksk.farmasi.unmul.ac.id
3. Huda M. Pengaruh Madu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus Aureus*) Dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*). J Anal Kesehat [Internet]. 2013;2:250–9. Available from: ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id
4. Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013. Indonesia; 2013.
5. Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia 2014. Indonesia; 2014.

6. Kementrian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia 2017 . Indonesia; 2018.
7. S D. Resistensi Antibiotik, Akankah Dapat Dikendalikan ? J Kedokt Kesehat Indones [Internet]. 2015;6:3. Available from: <http://jurnal.uui.ac.id>
8. Elsi Wineri, Roslaili Rasyid YA. Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan secara *In Vitro* terhadap *Streptococcus beta hemoliticus Group A* sebagai Penyebab Faringitis. 2014;3: 376–80.
9. Nadhilla NF. The Activity Of Antibacterial Agent Of Honey Against *Staphylococcus aureus*. Universitas Lampung. 2014;3:94–101.
10. Yuliati. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosae* dengan Metode Disk Diffusion. ejournal.upnvj.ac.id. 2017;11.
11. Simatupang M. Analisis Pengetahuan Konsumen Terhadap Madu Di Pt Apiari Pramuka Cibubur Jakarta Timur [Internet]. Institut Pertanian Bogor; 2011. Available from: <http://repository.ipb.ac.id/D11msi.pdf>
12. Eviana E. Strategi Pengembangan Budidaya Lebah Madu Di Desa Buana Sakti Kecamatan Batang Hari Kabupaten Lampung Timur [Internet]. [Skripsi] Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian (STIPER) Dharma Wacana Metro; 2017. Available from: [http://eprints.stiperdharmawacana.ac.id/163/1/skripsi Eva Eviana.pdf](http://eprints.stiperdharmawacana.ac.id/163/1/skripsi%20Eva%20Eviana.pdf)
13. Minarno EB. Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah *Carica pubescens Lenne&K. Koch* Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng. 2015;5:73–82.
14. Marlina.dkk. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi. 2005;3:26–31.
15. Simaremare ES. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana (Roxb.) Wedd*). Pharmacy. 2014;11:98–107.
16. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. 2013;2 (November 2013):128–32.
17. Utami R, Puspita R, Umaroh AK. Uji Aktivitas Madu terhadap *Eschericia coli* dan *Aspergillus fumigatus*. 2014;1–14.
18. D.Astrini, M.Singgih IN. Aktivitas Antibakteri Madu Pahit Terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif Serta Potensinya Dibandingkan Terhadap Antibiotik. 2014;39 (3) :75–83.
19. Sri Peni Fitrianiingsih, Annisa Khairat RC. Aktivitas Antibakteri Madu Hitam Pahit Dan Madu Hitam Manis Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. J Farm Galen. 1:32–7.
20. Rahman FA, Haniastuti T, Utami TW, Mulut DB, Gigi FK, Mada UG. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. 2017;3 (1):1–7.