

Antibacterial Activity of *Apis dorsata* Honey from Alas Marengan Banyuwangi against *Escherichia coli*

[Aktivitas Antibakteri Madu *Apis dorsata* dari Alas Marengan Banyuwangi terhadap *Escherichia coli*]

Hafidhotul Khoiriah¹⁾, Rahmah Utami Budiandari ^{*2)}

¹⁾Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: rahmautami@umsida.ac.id

Abstract. Honey is a natural liquid that usually has a sweet taste that is produced by honey bees from nectar or other parts of plants or insect excretions. Honey has ingredients such as H₂O₂, acidic pH, osmolarity, polyphenols, flavonoids, and alkaloids which function as antibacterials of Gung wasp honey (*Apis dorsata*) on the growth of *Escherichia coli*. This study used a laboratory experimental methods, with concentrations of gung honey bee (*Apis dorsata*), namely, 20%; 60%; and 100%. Amoxicillin 25 µg as a positive control and sterile aquadest as a negative control. The result obtained in this study were gung honey bee (*Apis dorsata*) showed weak antibacterial properties at concentrations of 20% and 60%, while at a concentration of 100% it produced an average score of the inhibition zone in the medium category. In the negative control there is no inhibition zone and positive control Amoxicillin produced a very strong inhibition zone. The conclusion of this study is honey wasp gung (*Apis dorsata*) can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria with a weak to moderate reaction..

Keywords - antibacterial, *Apis dorsata* forest honey, *Escherichia coli*

Abstrak. Madu adalah cairan alami yang biasanya memiliki rasa manis yang diproduksi oleh lebah madu dari nektar atau bagian lain tanaman atau ekskresi serangga. Madu mempunyai kandungan-kandungan seperti H₂O₂, pH asam, osmolaritas, polifenol, flavonoid, dan alkaloid yang berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui daya antibakteri berbagai konsentrasi larutan madu tawon gung (*Apis dorsata*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium, dengan konsentrasi larutan madu tawon gung (*Apis dorsata*) yaitu 20%; 60%; dan 100%. Amoxicillin 25 µg sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu madu tawon gung (*Apis dorsata*) menunjukkan sifat antibakteri lemah pada konsentrasi 20% dan 60%, sedangkan pada konsentrasi 100% menghasilkan skor rata-rata zona hambat kategori sedang. Pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat dan kontrol positif Amoxicillin menghasilkan zona hambat sangat kuat. Kesimpulan penelitian ini adalah madu tawon gung (*Apis dorsata*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan reaksi lemah sampai dengan sedang.

Kata Kunci - antibakteri, madu hutan *Apis dorsata*, *Escherichia coli*

I. PENDAHULUAN

Potensi sumber daya alam Indonesia sangat kaya, termasuk sumber daya pangan di dalamnya. Sumber daya pangan hutan merupakan aset bangsa Indonesia, karena hampir seluruh hasil flora dan fauna di daerah tropis memiliki fungsional sebagai bahan pangan yang bermutu. Aset negeri ini harus terus dicari, diteliti, dan dikembangkan serta dioptimalkan pemanfaatannya. Keunggulan herbal pada bahan pangannya yang bersifat alami terus melesat sebagai salah satu solusi untuk menciptakan dan mewujudkan masyarakat yang sehat secara alami, murah, mudah, dan aman [1]. Salah satu hasil sumber daya pangan hutan adalah madu.

Madu adalah unsur kompleks berupa zat manis alami yang diproduksi oleh lebah madu yang menghisap nektar bunga pada tanaman, sekresi bagian tanaman, atau ekskresi serangga yang dikumpulkan lebah lalu diubah menjadi madu dengan menambahkan senyawa spesifik yang dihasilkan oleh lebah yang dihimpun serta dimatangkan dalam sarangnya. Komposisi madu sangatlah kompleks dengan kandungan zat setidaknya 181-200 zat yang berbeda [2]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa madu mempunyai efek antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan meningkatkan imunitas [3]. Dalam madu terdapat 3% senyawa krusial yaitu fenolik dan karotenoid yang berperan signifikan sebagai antibakteri yang berhubungan dengan osmolaritas, keasaman dan sifat kimianya. Selain itu, madu juga mengandung senyawa aktif tanin, saponin dan flavonoid yang mempunyai efek sebagai antibakteri *Escherichia coli* [4].

Indonesia diakui dunia sebagai negara yang kaya dengan jenis-jenis lebah madu, dikarenakan mempunyai pluralitas jenis lebah madu [5], salah satunya lebah hutan *Apis dorsata* atau lebih dikenal dengan sebutan tawon gung.

Madu tawon gung memiliki manfaat yang hampir sama dengan madu ternak biasa, namun madu tawon gung memiliki manfaat yang lebih tinggi karena sifatnya yang lebih alami dan jauh dari penambahan zat-zat lainnya [6].

Bahaya biologi (organisme mikroskopis) pada pangan perlu mendapatkan cukup atensi karena jenis bahaya ini sering menjadi agen penyebab kasus keracunan makanan [7]. Berbagai penyakit dan infeksi terjadi lebih mudah melalui makanan yang masuk dan terkontaminasi ke dalam tubuh. Keracunan makanan bukan karena menelan mikroorganisme hidup melainkan terjadi akibat toksin yang disekresikan oleh mikroorganisme ke dalam makanan. Mikroorganisme yang menjadi penyebab keracunan makanan (*foodborne bacteria*) yang sering terjadi salah satunya adalah *Escherichia coli* [8]. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling berbahaya, tanda keracunan *Escherichia coli* sendiri adalah diare tanpa demam, dengan 5% kasus kejadian memburuk menjadi gagal ginjal [9].

Penelitian mengenai antibakteri madu telah dilakukan oleh beberapa tim peneliti, antara lain memperlihatkan data bahwa madu yang berasal dari beberapa negara bagian di Nigeria pada konsentrasi 20%; 50%; 75%; 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella spp.*, dan *Shigella spp.* [10]. Hasil penelitian yang serupa juga telah dilakukan [11] dengan menunjukkan terdapat pengaruh hambatan madu lebah Hutan Musi Rawas terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* mulai konsentrasi 10% sampai dengan 100% dengan kategori zona hambat kuat hingga sangat kuat.

Madu yang dihasilkan oleh koloni tawon gung di hutan nasional Alas Marengan Banyuwangi merupakan madu yang belum dikaji secara mendalam, utamanya mengenai daya hambat kandungan antibakteri di dalamnya. Berdasarkan uraian tersebut, maka penulis tertarik untuk mengetahui daya antibakteri larutan madu tawon gung yang berasal dari Alas Marengan Banyuwangi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 20%, 60% dan 100%.

Pemilihan konsentrasi madu 20%, 60% dan 100% didasarkan pada metode yang umum digunakan dalam studi sebelumnya untuk mengevaluasi efek antibakteri madu pada berbagai tingkat pengenceran. Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan bahwa madu pada konsentrasi tinggi (75–100%) memiliki aktivitas antibakteri paling kuat, sedangkan pada konsentrasi lebih rendah (di bawah 25%) efeknya cenderung menurun atau bahkan tidak signifikan, sehingga rentang konsentrasi ini penting untuk mengamati hubungan dosis-respons dan menentukan konsentrasi minimum yang masih efektif. Selain itu, penggunaan konsentrasi bertingkat memudahkan identifikasi titik minimum konsentrasi efektif (MIC) dan membandingkan potensi antibakteri madu terhadap *Escherichia coli* [12].

II. METODE

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2024 hingga Desember 2024 di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Pangan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah: *Autoclave* (All American 75x), batang pengaduk, *blank disc* (Macherey-Nagel), bunsen, cawan petri, erlenmeyer (iwaki pyrex), gelas arloji, gelas ukur (pyrex), inkubator (Binder BD 115), jangka sorong (Enzo), kapas ose, kawat ose, kompor listrik (Maspion), neraca analitik (OHAUS), oven (Mammert UN55), pipet volume (iwaki pyrex), bola hisap (D&N), tabung reaksi (iwaki pyrex), rak tabung, kapas coklat, kertas coklat, kertas alumunium (Klin Pak), plastik wrap (Klin Pak), dan spidol (Snowman).

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah: Madu tawon gung (dari petani madu hutan Alas Marengan Banyuwangi), aquadest steril (dari Toko Alat Kesehatan Mulya Jaya), biakan murni *Escherichia coli* (dari Laboratorium Mikrobiologi UIN Maliki Malang), media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (dari Nurra Gemilang Lab), media *Nutrient Agar* (NA) (dari Nurra Gemilang Lab), *amoxicillin* 25 µg, BaCl₂ (dari Nurra Gemilang Lab), NaCl (dari Nurra Gemilang Lab), dan H₂SO₄ (dari Toko Alat Kesehatan Mulya Jaya).

C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang berupa 5 perlakuan pada konsentrasi madu beserta kontrol. Setiap perlakuan akan dilakukan pengulangan sebanyak 4x ulangan. Dengan perlakuan:

1. Aquadest sebanyak 80% dan larutan madu sebanyak 20%
2. Aquadest sebanyak 40% dan larutan madu sebanyak 60%
3. Larutan madu sebanyak 100%
4. Kontrol positif *Amoxicillin* 25µg
5. Kontrol negatif aquadest steril

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Independen: Larutan madu tawon gung dari Alas Marengan Banyuwangi dengan berbagai konsentrasi.
2. Variabel Dependen: Diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

E. Analisa Data

Data hasil penelitian diuji menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 22. Uji normalitas data menggunakan metode Kolmogorov Smirnov Test, jika data berdistribusi normal dilanjutkan uji Analisis of Varians (ANOVA). Jika pada uji Anova hasil terdapat perbedaan yang nyata dari perlakuan larutan madu terhadap bakteri *Escherichia coli*, maka dilanjutkan dengan uji Pos Hoc Duncan untuk membandingkan antar perlakuan.

F. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan

a. Pengambilan Sampel

Madu diperoleh dari Alas Marengan Banyuwangi dan bakteri *Escherichia coli* diperoleh dari biakan murni yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh peralatan yang akan digunakan dicuci bersih dahulu menggunakan sabun lalu dikeringkan dan ditutup menggunakan kapas coklat untuk alat dengan lubang berdiameter kecil lalu dibungkus dengan koran.

Bahan-bahan yang telah dibuat dan alat-alat yang telah dibungkus kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C, bertekanan 1 atm dengan waktu 15 menit. Setelah selesai, alat-alat dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C selama 15 menit, setelah selesai alat dikeluarkan dan dibiarkan hingga dingin.

c. Peremajaan Bakteri

1) Pembuatan Media *Nutrien Agar Slant* (NAS)

- Nutrient agar* ditimbang sebanyak 0,5 gram.
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 25 ml.
- Dipanaskan di atas kompor listrik hingga mendidih sambil diaduk-aduk.
- Erlenmeyer diangkat dan ditutup menggunakan kapas coklat, dilapisi dengan *aluminium foil* kemudian diikat dengan benang.
- Disterilkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2) Peremajaan Bakteri

Media *nutrient agar* (NA) yang sudah disterilisasi dibiarkan dingin. Disiapkan tabung reaksi sebanyak 5 buah, biakan murni *Escherichia coli*, bunsen, dan kawat ose. Semua disiapkan ke dalam *laminar air flow* untuk menghindari kontaminasi. Saat *nutrient agar* sudah dingin, dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan volume 5 ml pada masing-masing tabung, lalu diletakkan dengan posisi miring hingga terdapat lereng dan dasar. Setelah media mengeras, dilakukan *streaking* pada media dengan arah zig-zag. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

d. Pengenceran Bakteri

1) Pembuatan NaCl 0,9%

NaCl sebanyak 0,9 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest sebanyak 99,1 ml. Kemudian suspensi dipindahkan ke dalam tabung reaksi, ditutup menggunakan kapas coklat dan *aluminium foil*. Lalu disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit.

2) Pembuatan Suspensi Standart MC. Farland 0,05

- Ditimbang BaCl₂ sebanyak 0,2 gram lalu dimasukkan ke dalam 20 mL aquadest, dihomogenkan.
- Dipipet 0,51 mL H₂SO₄ 98%, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 49,5 mL aquadest, dihomogenkan.
- Dipipet 0,05 mL BaCl₂ 1%, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 9,95 mL H₂SO₄ 1%, kemudian dihomogenkan.

3) Proses Pengenceran Bakteri

- 10 ml larutan NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan satu ose biakan bakteri *Escherichia coli* yang telah berumur 24 jam, yaitu biakan yang berasal dari *nutrient agar*.
- Dihomogenkan dan tambah biakan lagi jika diperlukan, hingga diperoleh suspensi dengan kekeruhan yang serupa dengan suspensi standart MC. Farland, maka konsentrasi suspensi adalah 10⁸ koloni/ml.

e. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

- MHA ditimbang sebanyak 5,7 gram.
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 150 ml.
- Dipanaskan di atas kompor listrik hingga mendidih sambil diaduk-aduk.
- Erlenmeyer diangkat dan ditutup menggunakan kapas coklat, dilapisi dengan *aluminium foil* kemudian diikat dengan benang.
- Disterilkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

2. Pembuatan Konsentrasi Madu dan Persiapan Disc

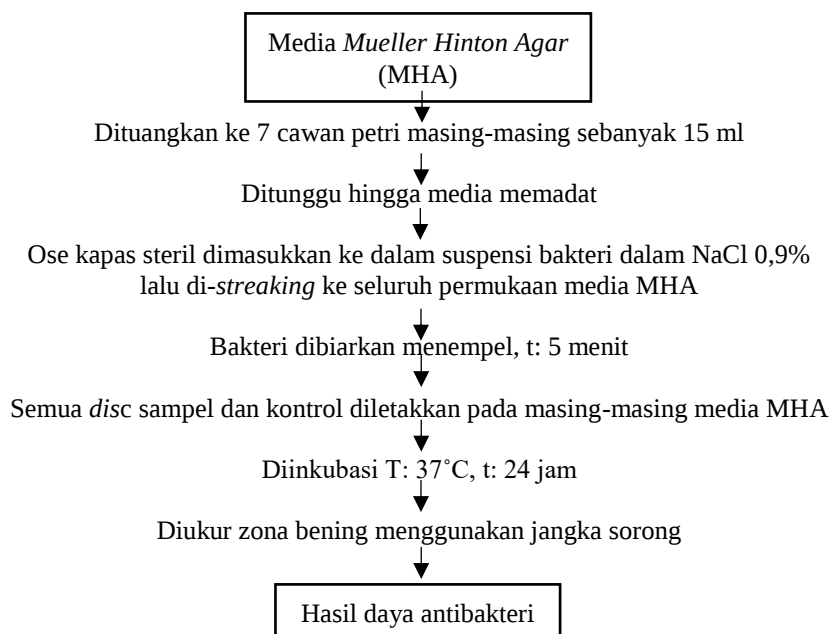
Semua konsentrasi madu dibuat dalam 10 ml. Sehingga volume zat terlarut yang digunakan saat konsentrasi 20%, 60% dan 100% berturut-turut yaitu 2 ml, 6 ml dan 10 ml. Dimasukkan 4 *blank disc* ke dalam setiap larutan konsentrasi madu 20%, 60%, 100% dan aquadest steril. Kemudian didiamkan selama 20 menit dan ditutup menggunakan kertas aluminium agar tidak terkontaminasi. Kontrol positif menggunakan *disc amoxicillin* 25 µg.

3. Pengujian Daya Antibakteri Madu Tawon Gung terhadap *Escherichia coli*

Pengujian efektivitas daya antibakteri dengan metode difusi Kirby Bauer berdasarkan [13]:

- Media MHA sebanyak 15 ml dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan terlebih dahulu kemudian ditunggu hingga media menjadi padat.
- Ose kapas steril dimasukkan ke dalam suspensi bakteri yang terdapat dalam larutan NaCl 0,9% lalu di-*streaking* ke seluruh permukaan media MHA secara merata hingga menutupi seluruh permukaan.
- Bakteri dibiarkan menempel pada media MHA selama 5 menit.
- Disc* antibiotik *amoxicillin* dan *disc* kontrol negatif diletakkan pada salah dua media MHA. Pada media MHA yang lain diletakkan *disc* yang telah direndam dengan larutan madu dengan berbagai konsentrasi. 1 media MHA untuk 1 konsentrasi larutan madu.
- Sediaan ini di inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, zona bening yang terbentuk di sekitar *disc* diukur diameternya menggunakan jangka sorong sebagai diameter daya hambat.

Diagram alir pengujian daya antibakteri dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengujian daya antibakteri [13]

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas daya antibakteri konsentrasi madu tawon gung (*Apis dorsata*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Metode yang digunakan adalah metode difusi disk dengan melihat adanya zona bening atau zona hambat yang terbentuk di sekitar disk.

Apabila zona bening yang terbentuk diameternya kurang dari 5 mm, maka daya hambat pertumbuhan masuk dalam kategori lemah dan akan diberi skor 1 [15], diameter zona bening yang terbentuk sebesar 5-10 mm, maka daya hambat pertumbuhan masuk dalam kategori sedang dan akan diberi skor 2, diameter zona bening yang terbentuk sebesar 10-20 mm, maka daya hambat pertumbuhan masuk dalam kategori kuat dengan skor 3 [16], dan apabila zona bening yang terbentuk lebih dari 20 mm, maka daya hambat pertumbuhan masuk kategori sangat kuat dengan skor 4 [17].

Konsentrasi madu yang digunakan pada penelitian ini adalah 0% (kontrol negatif), 20%, 60%, 100%, dan *amoxicillin* sebagai kontrol positif. Hasil zona bening yang terbentuk sebagai daya hambat madu tawon gung terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dalam Tabel 1. di bawah ini.

Tabel 1. Daya hambat madu tawon gung (*Apis dorsata*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*

Konsentrasi	Perlakuan (Skor)				Skor Rata-rata
	I	II	III	IV	
20%	1	1	1	1	1
60%	1	1	1	1	1
100%	2	2	2	2	2
Kontrol positif	4	4	4	4	4
Kontrol negatif	-	-	-	-	-

Keterangan:

- Kontrol positif : *Amoxicillin* 25µg
- Kontrol negatif : Aquadest steril

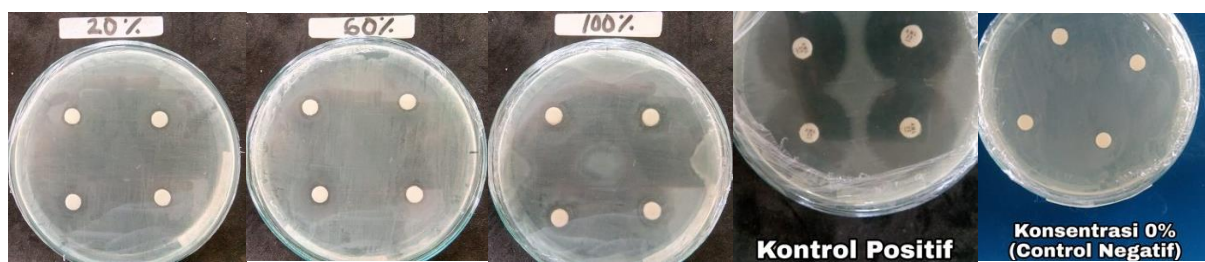
Berdasarkan pada Tabel 1. kategori zona hambat madu tawon gung pada konsentrasi 20% dan 60% memiliki daya hambat lemah terhadap bakteri *Escherichia coli* karena skor rata-rata 1s, sedangkan untuk konsentrasi 100% memiliki daya hambat sedang karena skor rata-ratanya 2. Kontrol positif termasuk kategori daya hambat sangat kuat sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji statistika One Way Anova untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan madu dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, dan dilanjutkan dengan uji Pos Hoc Duncan untuk mengetahui adanya perbedaan yang nyata pada perlakuan berbagai konsentrasi madu. Sebelum perhitungan menggunakan uji One Way Anova, perlu dilakukan satu syarat mutlak untuk mengetahui apakah data yang ada berdistribusi normal atau tidak yaitu uji normalitas Kolmogorov Smirnov.

Uji normalitas data bertujuan untuk memastikan data berdistribusi normal agar dapat dilanjutkan dengan uji One Way Anova. Berdasarkan hasil pengujian normalitas menggunakan Kolmogorov Smirnov Test pada Tabel 2. menunjukkan bahwa data tersebut berdistribusi normal, karena pada kolom zona hambat nilai signifikansi $p\ 0,200 > 0,05$, sehingga bisa dilakukannya uji lanjutan menggunakan uji statistika One Way Anova.

Hasil uji One Way Anova menunjukkan nilai signifikansi $p\ 0,000 < 0,05$, yang terdapat pengaruh perlakuan madu dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil uji Pos Hoc Duncan menunjukkan jika zona hambat pada kontrol positif *amoxicillin* 25 µg berbeda nyata dengan zona hambat semua konsentrasi larutan madu, pada konsentrasi 20% dan 60% berbeda nyata dengan konsentrasi 100%, sedangkan antara konsentrasi 20% dan 60% tidak berbeda nyata diantara keduanya. Dengan demikian dari hasil uji Pos Hoc Duncan, penggunaan antibakteri *amoxicillin* 25 µg menunjukkan daya hambat yang sangat kuat.

**Gambar 2.** Zona hambat madu tawon gung *Apis dorsata*

Hasil penelitian mengenai pengaruh konsentrasi larutan madu tawon gung terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 2. di atas, yang menunjukkan adanya daya hambat pada bakteri *Escherichia coli*, kecuali pada kontrol negatif. Zona hambat merupakan daerah jernih di sekitar disc yang dapat menunjukkan bahwa adanya aktivitas bakteri yang dihambat dan dinyatakan dalam satuan milimeter [18].

Setiap konsentrasi larutan madu tawon gung mampu menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 100% menunjukkan skor rata-rata terbesar pada, yang kedua pada konsentrasi 60%, dan yang terakhir pada konsentrasi 20%. Pada perlakuan dengan *amoxicillin* sebagai kontrol positif, terbentuk zona hambat yang sangat luas, dan pada

perlakuan dengan aquadest sebagai kontrol negatif, tidak terbentuk zona hambat. Hal ini membuktikan aquadest yang digunakan sebagai pelarut madu, tidak memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Selain itu, dengan adanya kontrol negatif membuktikan bahwa larutan madu yang di uji mempunyai efek terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, karena kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui bahwa pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga zona hambat yang dihasilkan bukan karena pelarutnya tetapi karena zat ujinya [19].

Amoxicillin digunakan sebagai antibiotik sintesis pada uji kontrol positif karena dinilai mempunyai kemampuan yang besar untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *amoxicillin* telah melewati berbagai tahapan proses uji secara spesifik sehingga didapatkan efektifitas optimal. Menurut beberapa hasil uji menunjukkan bahwa *amoxicillin* sebagai antibiotik sintesis mampu membentuk diameter zona hambat pada semua bakteri uji salah satunya bakteri yang digunakan dalam penelitian ini. Menurut Kaur dkk. (2011) dalam [20] menyatakan bahwa *amoxicillin* mempunyai efek bakterisidal cukup baik pada bakteri gram positif dan gram negatif. Perbedaan cara kerja dari *amoxicillin* dan madu adalah *amoxicillin* bekerja dengan cara menghambat sintesis protein dinding sel bakteri uji [21], sedangkan madu bekerja dengan cara merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri menggunakan senyawa fenol yang terkandung di dalam madu [22].

Madu mengandung fruktosa sebanyak 38%, glukosa sebanyak 31%, air sebanyak 17,1%, maltose sebanyak 7,2%, trisakarida sebanyak 4,2% serta beberapa polisakarida, sukrosa sebanyak 1,5%, mineral sebanyak 0,5%, vitamin dan enzim. Kandungan glukosa dan fruktosa yang sangat tinggi dalam madu juga yang menyebabkan larutan sangat hipertonik jika dibandingkan dengan sekeliling yang ada dalam tubuh bakteri, sifat hipertonik ini mengakibatkan bakteri lisis karena dehidrasi berat yang disebabkan efek osmosis. Madu juga memiliki kemampuan osmolaritas yang tinggi, kandungan H_2O_2 , pH yang asam, serta memiliki kadar air yang rendah dan aktivitas antibakteri yang cukup baik [23]. Selain itu, madu tawon gung mengandung senyawa aktif tanin, saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri *Escherichia coli* [4].

Pada konsentrasi terkecil memiliki zona bening yang sempit karena pada konsentrasi ini kandungan madu sangat sedikit yakni sebanyak 2 ml dengan perbandingan aquadest sebanyak 8 ml sehingga osmolaritas dalam madu kurang baik. Menurut [24] tingginya osmolaritas dalam madu dipengaruhi oleh kandungan glukosa yang tinggi yang akan menarik cairan dalam sel bakteri sehingga terjadi kontraksi protoplasma sel akibat hilangnya air dalam sel, yang mengakibatkan bakteri mengalami hipertonik dan akhirnya tidak bisa tumbuh atau menyusut, mengerut, dan mengalami kematian. Selain itu, pH madu dan kadar asam asetat dapat merusak struktur bilayer lipid bakteri, menyebabkan masuknya proton ke dalam sitoplasma, hal ini menyebabkan sitoplasma menjadi asam, yang berakibat pada denaturasi protein dan kehilangan energi oleh bakteri [25].

Pada konsentrasi 60% lebar zona bening meningkat walau masih dalam kategori lemah, dan pada konsentrasi 100% sudah masuk dalam kategori sedang. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi madu yang semakin tinggi, semakin besar pula perbandingan madu terhadap pelarut aquadest sehingga osmolaritas pada madu semakin tinggi. Hal ini juga sesuai dengan penelitian serupa yang telah dilakukan oleh [26] yang menunjukkan peningkatan zona hambat madu tawon gung terhadap *Escherichia coli* dari konsentrasi 10% hingga 100% yakni dengan skor 1 hingga skor 3.

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif, berbeda dengan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang sederhana, dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks yang terdiri dari tiga lapis (multi), membran luarnya mengandung lipopolisakarida yang hal ini juga mempengaruhi penetrasi dari zat aktif dalam madu menjadi lebih sulit pada bakteri *Escherichia coli*, sehingga daya hambat pertumbuhannya menjadi tidak terlalu besar [23].

Rendahnya aktivitas antibakteri madu tawon gung dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dikarenakan kandungan mikroorganisme awal madu yang cukup tinggi, yakni mikroorganisme seperti bakteri, ragi, dan kapang yang sudah terdapat di dalam madu sejak proses produksi, baik yang berasal dari nektar bunga, lebah, maupun lingkungan sekitar saat madu dipanen dan disimpan, sehingga zona bening yang terbentuk di sekitar madu sangat kecil. Perbedaan letak geografis juga bisa mempengaruhi daya antibakteri dalam madu. Sumber pencemaran lainnya juga bisa dari manusia, air, serangga lainnya dan juga peralatan yang digunakan dalam memanen madu [27].

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik *disc diffusion* yang mempunyai kelemahan yaitu zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi seperti suhu, inokulasi bakteri ke dalam medium, predifusi serta preinkubasi dan ketebalan medium. Apabila faktor-faktor yang telah disebutkan tidak sesuai, maka hasil dari penelitian yang menggunakan *disc diffusion* akan lebih sulit untuk diinterpretasikan [28].

IV. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji daya antibakteri yang terkandung dalam madu tawon gung (*Apis dorsata*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* telah dilakukan secara *in vitro* didapatkan kesimpulan bahwa larutan madu tawon gung (*Apis dorsata*) dari Alas Marengan Banyuwangi dengan berbagai konsentrasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Jurnal ilmiah ini dapat diselesaikan atas bimbingan, pengarahan, dan bantuan banyak pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih utamanya kepada Bu Rahmah Utami Budiandari, S.TP., MP selaku Kaprodi Teknologi Pangan dan dosen pembimbing yang dengan sabar dan teliti membimbing penulis, serta teman-teman prodi Teknologi Pangan angkatan 2021, 2022, dan 2023 yang selalu kebersamaan dan membantu penulis selama masa perkuliahan hingga penyelesaian jurnal ilmiah ini.

REFERENSI

- [1] S. Juariah, N. Yolanda, and A. Surya, "Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Salmonella Typhi*," *Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen terhadap Staphylococcus Aureus dan Salmonella Typhi*, vol. 5, no. 2, pp. 338–344, Jun. 2020, doi: 10.22216/jen.v5i2.3140.
- [2] N. R. Rifai, N. A. Adriani, and N. F. Hoesni, "Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Madu di Desa Danau Lamo Kabupaten Muaro Jambi," *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan Dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, vol. 3, no. 1, pp. 483–492, Sep. 2022, doi: 10.47687/snppvp.v3i1.334.
- [3] M. A. Dewi, R. E. Kartasasmita, and M. S. Wibowo, "Uji Aktivitas Antibakteri beberapa Madu Asli Lebah Asal Indonesia terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*," *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, vol. 5, no. 1, Aug. 2017, doi: 10.26874/kjif.v5i1.86.
- [4] Suwito, W., Andriani, I. A., Rohmayanti, T., Haris, H., & Karimy, M. F. (2024). Aktivitas Madu sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* O157: H7 Antibacterial Activity Honey Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia Coli* O157: H7. *Jurnal Sain Veteriner*, 42(1). Doi: 10.22146/jsv.90498
- [5] J. S. A. Lamerkabel et al., "Karakteristik Morfologi dan Morfometrik Lebah Madu Tak Bersengat (Apidae; Melliponinae) pada Koloni di Daerah Pesisir Pulau Ambon," *Jurnal Budidaya Pertanian*, vol. 17, no. 1, pp. 28–35, Jun. 2021, doi: 10.30598/jbdp.2021.17.1.28.
- [6] N. Wijayanti, A. M. Oklima, S. Nurwahidah, and H. Kusnayadi, "Habitat Characteristics of the Honey Bee (*Apis dorsata*), Harvesting Methods of Forest Honey, and Characteristics of Sumbawa Forest Honey in Sumbawa Regency, Indonesia," *Journal of Global Sustainable Agriculture*, vol. 3, no. 1, p. 14, Dec. 2022, doi: 10.32502/jgsa.v3i1.5291.
- [7] A. Nur, A. Noor, and S. Sirajuddin, "Aktivitas Antibakteri Madu *Trigona* terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*)," *Jurnal Kesehatan Poltekkes Ternate*, vol. 12, no. 1, pp. 1–7, May 2024, doi: 10.32763/eqxmr13.
- [8] S. S. Prihandani, "Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam Meningkatkan Keamanan Pangan," *Informatika Pertanian*, vol. 24, no. 1, p. 53, Jul. 2015, doi: 10.21082/ip.v24n1.2015.p53-58.
- [9] N. F. Fitriana, "Gambaran Pengetahuan Pertolongan Pertama Keracunan Makanan," *Jurnal Kesehatan Tambusai*, vol. 2, no. 3, pp. 173–178, Sep. 2021, doi: 10.31004/jkt.v2i3.2260.
- [10] R. Widowati et al., "Kualitas dan Aktivitas Antibakteri Madu *Apis Dorsata* yang Berkoloni pada Tiga Pohon Berbeda di Kalimantan Utara," *JFIOnline | Print ISSN 1412-1107 | e-ISSN 2355-696X*, vol. 10, no. 1, May 2019, doi: 10.35617/jfi.v10i1.580.
- [11] M. Huda, "Pengaruh Madu terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*)," *Jurnal Analis Kesehatan*, vol. 2, no. 2, pp. 250–259, May 2017, doi: 10.26630/jak.v2i2.437.
- [12] G. Mustafa, A. Iqbal, A. Javid, M. Manzoor, S. Aslam, Ahmad Ali, S. M. Azam, M. Khalid, M. Farooq, Y. Al Naggar, S. A. Alharbi, H. A. El Enshasy, R. Abd Malek, S. Qamer, and A. Hussain, "Antibacterial properties of *Apis dorsata* honey against some bacterial pathogens," *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 28, no. 12, pp. 7687–7693, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.sjbs.2021.09.059.
- [13] N. A. A. Fatoni, N. F. D. Alexandra, and N. Triawanti, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Tabat Barito (*Ficus deltoideajack*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dengan Metode Cakram Kirby-Bauer," *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, vol. 5, no. 1, pp. 371–382, Apr. 2017, doi: 10.37304/jkupr.v5i1.599
- [14] E. D. R. Purba and R. P. K. Dewi, "Uji Aktivitas Antibakteri Madu Pahit Pelawan terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*," *Jurnal Ilmiah JOPHUS Journal of Pharmacy UMUS*, vol. 4, no. 02, pp. 31–37, Feb. 2023, doi: 10.46772/jophus.v4i02.1015.
- [15] E. P. Rini and E. R. Nugraheni, "Uji Daya Hambat berbagai Merek Hand Sanitizer Gel terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*," *JPSCR Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, vol. 3, no. 1, p. 18, Mar. 2018, doi: 10.20961/jpscr.v3i1.15380.

- [16] Sa'Adah, Hayatus, et al. "Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Pohon Jambu Mede (*Anacardium Occidentale* L) pada Bakteri *Shigella dysenteriae*." *Jurnal Inovasi Penelitian*, vol. 3, no. 1, 1 Jun. 2022, pp. 4531-4536, doi:10.47492/jip.v3i1.1656.
- [17] R. R. M. Sudarwanto, and I. Wientarsih, "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.*," *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, vol. 9, no. 2, Sep. 2015, doi: 10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2842
- [18] I. Permatasari, J. Jumiati, and M. Zainuddin, "Analisa Ektrak Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*) sebagai Bahan Pengawet Alami terhadap Mutu Ikan Kuniran (*Upeneus moluccensis*)," *Jurnal Miyang Ronggolawe Fisheries and Marine Science Journal*, vol. 1, no. 1, pp. 20–24, Feb. 2022, doi: 10.55719/j.miy.v1i1.364.
- [19] D. A. K. Mulangsri, R. A. Ningrum, and N. Imliyyah, "Antibacterial activity of N-hexane and diethyl ether fraction of *Piper betle* L. leaf against *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* bacteria," *Indones. J. Chem. Sci.*, vol. 11, no. 1, pp. 26–32, 2022, doi: 10.15294/ijcs.v11i1.51850.
- [20] S. Maida and K. A. P. Lestari, "Aktivitas Antibakteri Amoksisilin terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif," *JURNAL PIJAR MIPA*, vol. 14, no. 3, pp. 189–191, Sep. 2019, doi: 10.29303/jpm.v14i3.1029.
- [21] M. Mardiah, "Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin dan Propolis," *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, vol. 8, no. 2, Dec. 2017, doi: 10.20956/jal.v8i16.2978.
- [22] A. Arumsari, "Perbandingan Parameter Standar dan Aktivitas Antibakteri Madu Rahmi, Madu Manuka, Madu Kelengkeng Perhutani terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar," *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, vol. 2, no. 1, pp. 26–32, Feb. 2019, doi: 10.29313/jiff.v2i1.4218.
- [23] Y. Yuliati, "Uji Efektivitas Larutan Madu sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk Diffusion," *Jurnal Profesi Medika Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, vol. 11, no. 1, Oct. 2017, doi: 10.33533/jpm.v11i1.206.
- [24] A. D. C. F. Alamsyah, N. Hasbi, and R. Rosyunita, "Analysis Antimicrobial Activity of Sumbawa White Honey against *Staphylococcus aureus* ATCC 25293," *JURNAL BIOLOGI TROPIS*, vol. 24, no. 4, pp. 88–96, Oct. 2024, doi: 10.29303/jbt.v24i4.7467.
- [25] R. U. Budiandari, R. Azara, R. Adawiyah, and A. E. Prihatiningrum, "Studi Karakteristik Kimia Minuman Probiotik Kombucha Sari Kulit Nanas (*Ananas comosus*)," *TEKNOLOGI PANGAN Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, vol. 14, no. 2, pp. 181–188, Aug. 2023, doi: 10.35891/tp.v14i2.3890.
- [26] Y. Adalina, A. H. Mulyati, and P. Prayoga, "Forest honey antibacterial activity test of *Apis dorsata* bees species against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* bacteria," in **AIP Conf. Proc.**, vol. 3172, no. 1, p. 020001, Mar. 2025, doi: 10.1063/5.0241852.
- [27] E. Evahelda, F. Pratama, and B. Santoso, "Sifat Fisik dan Kimia Madu dari Nektar Pohon Karet di Kabupaten Bangka Tengah, Indonesia," *Jurnal Agritech*, vol. 37, no. 4, p. 363, Mar. 2018, doi: 10.22146/agritech.16424.
- [28] K. Intan, A. Diani, and A. S. R. Nurul, "Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*," *JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis S Health Journal)*, vol. 8, no. 2, pp. 121–127, Dec. 2021, doi: 10.33653/jkp.v8i2.679..

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.