

UJI SENSITIVITAS PROPOLIS TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia coli*

Anindya Lokawanti Al Fahna

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; alfahnaa@gmail.com

Pestariati

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; pestariati@gmail.com

Wisnu Istanto

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya; istantompbi@gmail.com

ABSTRACT

The threat of infectious diseases from strains of pathogenic bacteria Staphylococcus aureus and Eschericiacoli is capable of causing resistance to antibiotics. The prevalence of MRSA cases was 8.2%. One of the efforts to control infections caused by antibiotic-resistant bacteria is to utilize several antimicrobial compounds derived from natural ingredients, namely propolis. Contains polyphenolic compounds and flavonoids that function as antimicrobials. The purpose of this study was to analyze the inhibition zone formed due to the antimicrobial activity of propolis extract against the growth of Staphylococcus aureus and Eschericia coli bacteria. This research was conducted in vitro at the Microbiology Laboratory of the Medical Laboratory Technology Department of Health Poltekkes Surabaya in February – April 2021. This study used the Kirby Bauer diffusion method with paper blank discs on MHA media by measuring the diameter of the inhibition zone formed from the growth of Staphylococcus aureus and Eschericia coli with units of mm. Research The concentration of propolis extract used was 5%, 10%, 15%, and 20%. In this study, it was concluded that propolis extract can be used as an antimicrobial compound, there is a different effect of concentration of propolis extract on Staphylococcus aureus from Eschericia coli. Data analysis on the Kruskal Wallis test has a value of 0.004 (<0.05) which indicates that there is a significant difference between each concentration of propolis extract both against Staphylococcus aureus and Eschericia coli. The effect of the effective concentration is at a concentration of 20% against Staphylococcus aureus which has an average inhibition zone diameter of 13 mm while that of Eschericia coli is 22.5 mm.

Keywords : Sensitivity test; Propolis, *Staphylococcus aureus*; *Eschericia coli*

ABSTRAK

Ancaman penyakit infeksi dari strain bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* mampu menimbulkan resisten terhadap antibiotik. Kasus prevalensi MRSA sebanyak 8.2%. Salah satu upaya pengendalian infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten antibiotik adalah memanfaatkan beberapa senyawa antimikroba yang berasal dari bahan alam, yaitu propolis. Memiliki kandungan senyawa polifenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai antimikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa zona hambat yang terbentuk karena aktivitas antimikroba pada ekstrak propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Penelitian ini dilakukan secara invitro dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Surabaya pada bulan Februari – April 2021. Penelitian ini menggunakan metode difusi Kirby bauer dengan paper blank disc pada media MHA dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk dari pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan satuan mm. Penelitian Kosentrasi ekstrak propolis yang digunakan 5%, 10%, 15%, dan 20%. Pada penelitian ini didapat kesimpulan bahwa ekstrak propolis dapat digunakan sebagai senyawa antimikroba terdapat pengaruh konsentrasi ekstrak propolis terhadap *Staphylococcus aureus* berbeda dengan *Eschericia coli*. Data analisis pada uji Kruskal wallis memiliki nilai 0.004 (<0.05) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna diantara masing-masing konsentrasi ekstrak propolis baik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Pengaruh konsentrasi efektif terdapat pada konsentrasi 20% terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki rerata diameter zona hambat sebesar 13 mm sedangkan pada *Eschericia coli* sebesar 22.5 mm.

Kata kunci : Uji Sensitivitas, Propolis; *Staphylococcus aureus*; *Eschericia coli*

PENDAHULUAN

Ancaman penyakit infeksi dari strain bakteri patogen dan resisten terhadap antibiotik telah meningkat sangat cepat dalam kurun waktu terakhir. *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* mampu menimbulkan penyakit berspektrum luas. Infeksi yang terjadi diatasi dengan pemberian antibiotik, akan tetapi pada beberapa kasus telah ditemukan strain terdapat resisten antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Salah satunya adalah resisten terhadap antibiotik seperti *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).⁽¹⁾

Terdapat penelitian yang dilakukan pada pasien di RS Dr. Soetomo Surabaya diperoleh kasus prevalensi MRSA sebanyak 8,2%. Walaupun hasil penelitian menunjukkan bahwa masih rendah kasus prevalensi MRSA di Indonesia akan tetapi perlu adanya strategi penanggulangan lebih dini dan segera agar tidak terjadi kasus resistensi yang lebih lanjut⁽²⁾, sedangkan Resistensi *Escherichia coli* terhadap berbagai antibiotik telah banyak dilaporkan. Golongan *Enterobacteriaceae* telah banyak yang resisten terhadap golongan β -laktam, fosfomisin, dan golongan kuinolon. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sidjabat dan Paterson (2015), bakteri *Escherichia coli* telah menjadi multiresisten terhadap berbagai jenis β -laktam.⁽³⁾

Salah satu upaya pengendalian infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten antibiotik adalah dengan memanfaatkan beberapa senyawa antimikroba yang berasal dari bahan alam, yaitu propolis. Propolis memiliki banyak manfaat dan potensi khusus, karena memiliki sifat sebagai antimikroba yang telah banyak digunakan sebagai suplemen, anti peradangan terapi penyakit, mempercepat penyembuhan luka dan lain-lain.⁽⁴⁾ Haryanto (2012), menyebutkan bahwa propolis mempunyai khasiat lain, yaitu bagus sebagai antikanker, antivirus, antifungi dan antibiotik. Propolis memiliki kandungan senyawa polifenol dan flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antimikroba dengan cara mengikat asam amino neofilik pada protein dan inaktivasi enzim.⁽⁵⁾

Penelitian Apriliana (2019), tentang perbandingan efektivitas ekstrak propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif didapatkan hasil bahwa terdapat zona hambat pada bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100%. Sedangkan, pada penelitian serupa Manuel (2016). Menyimpulkan bahwa propolis mempunyai aktivitas antimikroba yang tinggi terhadap bakteri gram positif dibandingkan gram negatif. Namun tidak selamanya *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap propolis. Menurut Manuel, terdapat kecenderungan *Staphylococcus aureus* tidak sensitif terhadap propolis karena komposisi kimia didalamnya bergantung terhadap suhu dan letak geografis wilayah yang berbeda.⁽⁶⁾

Berdasarkan kasus resistensi antibiotik yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta perkembangan zaman yang semakin modern, pemanfaatan bahan senyawa alami yang dikemas dapat menjadi solusi, maka dari itu penelitian ini bertujuan untuk melihat seberapa besar perbandingan sensitivitas diantara antibiotik ciprofloxacin dan pemanfaatan senyawa bahan alam propolis dalam bentuk kemasan terhadap daya hambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dengan harapan bahwa propolis dapat membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sehingga senyawa dalam propolis dapat digunakan sebagai antibiotik alternatif.

METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium, dimana pengaruh perlakuan pada kelompok perlakuan diukur dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok control dan dilakukan pretest (uji pendahuluan). Hasil penelitian yang didapat adalah diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang terbentuk menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Penelitian dilakukan pada bulan Februari–Juni 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Surabaya. Populasi propolis yang digunakan sebanyak 6 ml yang diencerkan dengan propilen glikol, sehingga akan didapatkan ekstrak propolis konsentrasi 20%, 15%, 10%, dan 5%. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* 25922. Merupakan isolat didapatkan dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, dibiakan di medium *Nutrient Agar Slant*. Sampel pengulangan yang dibutuhkan adalah 4 kali pengulangan dengan menggunakan metode difusi *Kirby bauer* dengan merendam *paper blank disc* steril kosong kedalam berbagai konsentrasi propolis selama 20 menit. Selanjutnya *paper blank disc* steril kosong ditanam kedalam media MHA yang sudah diinokulasikan bakteri uji. Media kemudian diinkubasi pada inkubator selama 24 jam, yang kemudian akan terbentuk zona hambat. Pengolahan data diameter zona hambat dilakukan dengan analisis bivariat yaitu, uji normalitas, uji homogenitas, dan uji alternatif *One Way Anova* yaitu uji *Kruskal wallis*.

HASIL

Hasil pemeriksaan terhadap uji sensitivitas propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapat hasil berupa zona hambat dalam satuan (mm) yang setiap perlakuannya terdapat 4 varian konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% dengan 4 kali pengulangan dari setiap perlakuan, yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi ekstrak propolis 20% dengan diameter zona hambat sebesar 13 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan pada *Escherichia coli* terbentuk rata-rata diameter zona hambat sebesar 22.5 mm. Karena kandungan senyawa antimikroba dimiliki ekstrak propolis, zona hambat yang terbentuk membesar pada setiap kenaikan konsentrasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Ika (2017), yang menyatakan bahwa besarnya diameter yang menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri, berbanding lurus dengan konsentrasi bahan yang diberikan. Itu disebabkan karena semakin tingginya konsentrasi maka semakin banyak ekstrak yang terkandung sehingga senyawa-senyawa yang dimiliki ekstrak semakin meningkat.⁽⁷⁾

Tabel 1. Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus* Terhadap Ekstrak propolis

Pengulangan	Diameter Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)					
	5%	10%	15%	20%	Ciprofloxacin	Kontrol negatif
1	8	10	11	12	40	0
2	8	11	12	12	40	0
3	11	13	14	14	40	0
4	8	10	13	14	40	0
Rerata	8.5	11	12.5	13	40	0
Nilai Min	8	10	11	12	40	0
Nilai Max	11	13	14	14	40	0

Tabel 2. Diameter Zona Hambat *Escherichia coli* Terhadap Ekstrak Propolis

Pengulangan	Diameter zona hambat <i>Escherichia coli</i> (mm)					
	5%	10%	15%	20%	Ciprofloxacin	Kontrol negatif
1	14	11	14	25	50	0
2	14	11	12	20	50	0
3	11	11	0	25	50	0
4	0	11	11	20	50	0
Rerata	9.75	11	9.25	22.5	50	0
Nilai Min	0	11	0	20	50	0
Nilai Max	14	11	14	25	50	0

Dari hasil analisis data untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh propolis terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada 4 kelompok konsentrasi, maka dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji Shapiro wilk dan didapat hasil $P < 0.05$, yang menunjukkan bahwa kedua data hasil diameter zona hambat tidak terdistribusi dengan normal. Dilanjutkan dengan uji homogenitas (*Homogeneity of variance*) dengan hasil yang didapat bahwa $P > 0.01$ yang menunjukkan bahwa data tidak bersifat homogen. Uji *Kruskal Wallis* digunakan sebagai uji alternatif dari uji Anova One Way, Ketika salah satu sebaran data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen. Hasil Uji *Kruskal Wallis* didapat nilai signifikan yaitu $0.004 < \alpha = 0.05$, maka menunjukkan bahwa ada perbedaan dari setiap masing- masing konsentrasi ekstrak propolis dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan menggunakan uji Kruskal wallis dengan nilai signifikan yaitu $0.004 < \alpha = 0.05$, menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pada setiap masing- masing konsentrasi ekstrak propolis terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Menurut klasifikasi CLSI (2021), berdasarkan luas zona hambat yang terbentuk terhadap respon daya hambat bakteri, hasil rerata zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar 13 mm termasuk kedalam golongan daya hambat lemah atau *intermediate* (I), sedangkan pada hasil rerata zona hambat pada *Escherichia coli* sebesar 22.5 mm termasuk kedalam golongan daya hambat kuat atau *susceptible* (S). Pada Ciprofloxacin konsentrasi 5% (5µg) yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* 40 mm dan *Escherichia coli* 50 mm yang termasuk kedalam golongan daya hambat kuat karena melebihi ketentuan menurut klasifikasi CLSI (2021) (>20 mm), bersifat bakterisidal dan bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, Ciprofloxacin menghambat replikasi DNA bakteri dengan cara mengganggu mekanisme kerja DNA gyrase selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri.⁽⁸⁾

Zona daya hambat yang terjadi pada daerah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* disebabkan adanya aktivitas senyawa flavonoid dalam propolis yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi inaktivasi enzim, serta membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut, sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler⁽⁹⁾. Konsentrasi tertinggi yang mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut adalah konsentrasi 20% dengan rerata 13 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 22,5 mm untuk *Escherichia coli*. Untuk bakteri *Escherichia coli* dengan rerata zona hambat 22,5 mm menandakan bahwa pada ekstrak propolis konsentrasi 20% memiliki sifat bakteriosida yang dapat membunuh bakteri,

karena kandungan senyawa antimikroba dalam ekstrak propolis sedang meningkat, sehingga terjadi peningkatan diameter zona hambat dari setiap kenaikan konsentrasi. Menandakan juga bahwa besarnya diameter yang menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri berbanding lurus dengan konsentrasi bahan yang diberikan. Itu disebabkan karena semakin tingginya konsentrasi maka semakin banyak ekstrak yang terkandung, sehingga senyawa-senyawa yang dimiliki ekstrak semakin banyak.⁽⁷⁾

Adanya aktivitas penghambat dari ekstrak propolis pada penelitian ini karena terdapat senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak propolis. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Prestianti (2017) yaitu melakukan Skrining Fitokimia untuk mengidentifikasi adanya senyawa aktif yang terdapat pada sampel sarang lebah atau propolis. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diperoleh hasil positif pada ekstrak sarang lebah mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan asam fenolat. Senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme pengambatan yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri.⁽¹⁰⁾

Flavonoid merupakan senyawa preduksi dan antimikroba yang memiliki 3 mekanisme yaitu menghambat sintesis asam nuklat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi. Menyebabkan terjadinya kerusakan fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, sehingga tidak mampu mempertahankan bentuk membran. Mekanisme kerjanya dengan cara mendanaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel.⁽³⁾ Ikatan yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak dan akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma. Mekanisme antimikroba senyawa asam fenolat adalah mengganggu kerja didalam membran sitoplasma mikroba termasuk mengganggu transport aktif dan kekuatan proton. Mekanisme penghambatan senyawa fenolat pada bakteri dikarenakan oleh gangguan pada membrane sel dan sintesis komponen struktur bakteri, sehingga senyawa dapat mengganggu membran dan menyebabkan kematian sel. Dan senyawa tanin merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki aktifitas yang berhubungan dengan menginaktivkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan sel. Mekanisme kerja tannin sebagai antimikroba yaitu dengan menghambat reverse transkriptasi dan DNA topoisomerase, sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk⁽¹⁰⁾.

Penelitian Silva yang dilakukan tahun (2012) menyatakan bahwa propolis memiliki aktivitas yang lebih rendah terhadap bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif. Hal tersebut sejalan dengan hasil yang didapat pada pengulangan ke 4 konsentrasi 5% dan 15% tidak terdapat zona hambat yang terbentuk pada *Eschericia coli*. Adanya perbedaan diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh jumlah dan jenis bakteri yang diuji. Hal ini karena struktur dinding sel bakteri gram negatif relatif kompleks yaitu tersusun dari tiga lapisan yaitu lapisan lipopolisakarida, lipoprotein dan peptidoglikan, sehingga senyawa antimikroba lebih sulit masuk ke dalam sel.⁽⁵⁾ Selain itu ada faktor lain yang dapat mempengaruhi daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri yaitu, asal bahan ekstrak, konsentrasi ekstrak, kondisi iklim, cara penyimpanan bahan ekstrak, proses pembuatan ekstrak dan waktu penyimpanan ekstrak dapat menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas daya hambat yang dapat ditimbulkan oleh ekstrak tersebut.⁽¹¹⁾

Target utama antimikroba yaitu membran sitoplasma sel mikroorganisme patogen, karena reaksi awal antimikroba dapat merusak permeabilitas membran dan juga menghilangkan *Proton Motiveforce* (PMF), sehingga menghambat produksi energi dan juga biosintesis protein. Mekanisme aktivitas bakterisidal dari antimikroba yaitu berupa kontak langsung dengan membran sel bakteri. Ketidaksatbilan membran tersebut mampu memberikan dampak terhadap pembentukan lubang atau pori pada membran sel bakteri patogen melalui peroses gangguan pada PMF. Kebocoran sel ini berdampak terhadap penurunan pH sel dan mampu mengubah gradien potensial membrane dan juga pelepasan molekul intraseluler, serta masuknya substansi ekstraseluler. Peristiwa tersebut berpengaruh menghambat pertumbuhan sel bakteri patogen dan mampu menyababkan kematian sel bakteri yang sensitif terhadap antimikroba.⁽¹²⁾

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah ekstrak propolis memiliki aktivitas senyawa antimikroba yang dapat dimanfaatkan untuk antibiotik alternatif dalam mencegah resistensi antibiotik terhadap bakteri patogen penyebab penyakit infeksi. Semakin besar konsentrasi ekstrak propolis, semakin kecil jumlah koloni yang tumbuh dan konsentrasi efektif ada pada konsentrasi 20% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Eschericia coli*. Hasil rerata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 13 mm yang termasuk kedalam daya hambat lemah dan *Eschericia coli* sebesar 22.5 mm termasuk kategori daya hambat kuat. Diharapkan peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian uji sensitivitas propolis terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif lain menggunakan bahan dan metode lain. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara klinis dengan menggunakan hewan coba untuk mengetahui lebih luas tentang khasiat propolis sehingga kandungan senyawa antimikroba didalamnya dapat dimanfaatkan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mardiah. Uji Resistensi *Staphylococcus Aureus* terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin Dan Propolis. *Jurnal Ilmu Malam Dan Lingkungan*, 2017. 8(2), 1 - 6. doi:10.20956/jal.v8i16.2978

2. Kuntaman, K., Hadi, U., & Setiawan, F. Prevalence Of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* From Nose And Throat Of Patients On Admission To Medical Wards Of Dr Soetomo Hospital, Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*; 2016. 47(1), 66-70. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27086426/>
3. Juniiiana, E., Tjiptaningrum, A., & Julianingrum, R. Perbandingan Efektivitas Ekstrak Propolis Dalam Menghambat Pertumbuhan Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) Dan Gram Negatif (*Escherichia coli*) Secara In Vitro Comparison Of Effectiveness Of Propolis Extract Against Gram Positive Bacter. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*; 2019. 3(1). 129-134. Retrieved from <http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/JK/article/view/2216>
4. Suranto, A. *Dahsyatnya Propolis Untuk Menggempurkan Penyakit*. Jakarta: Media Pustaka; 2010.
5. Lutpiatina, L. Efektivitas Ekstrak Propolis Lebah Kelulut (*Trigona Spp*) Dalam Menghambat Pertumbuhans *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* Dan *Candida albicans*. *Jurnal Skala Kesehatan*; 2015. 6(1). 1 - 8. doi:<https://doi.org/10.31964/jsk.v6i1.32>
6. Bucio, C. M. Actividad Antibacteriana De Un Extracto Acuoso De Propóleo Del Municipio De Irapuato, Guanajuato, México. *Agronomía Mesoamerican*; 2017. 28(1), 223 - 227. doi:10.15517/am.v28i1.24253
7. Prestiati, I. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Sarang Lebah dan madu Hutan dari Kolaka terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas*. In I. Prestiati, *Skripsi*. (p. 54). Makassar: UIN Alauddin Makassar; 2017.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100 Performance Standars For Antimicrobial Susceptibility Testing 31st Edition. P (38); 2021.
9. Hanifa, F., Purwaningrum, R., & Mustofa, F. Efektivitas Madu Murni Dan Propolis Terhadap Bakteri Pencemar Susu Penyebab Foodborne Disease Pada Produk Susu Kemasan. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*; 2020. 11(1). 47 - 52. Retrieved from <https://akper-sandikarsa.e-journal.id/JIKSH/article/view/217>
10. Prestianti, I., Bahrudin, M., & Sappewali. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah Hutan (Apis Dorsata) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* Dan *Pseudomonas aeruginosa*. *AlchemyJurnal Penelitian Kimia*; 2018. 14(2). 313. Retrieved from <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/article/view/13028>
11. Dewa, I, A R. Efek Antibakteri Ekstrak Ethanol Kulit Batang Tanaman Cempaka Kuning (*M. Champaca L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*. *Skripsi*. Denpasar : FK Universitas Udayana; 2018.
12. Feliatra. *Probiotik Suatu Tinjauan Keilmuan Baru Bagi Pakan Budi Daya Perikanan Edisi Pertama* Jakarta: Gramedia; 2018.