

The Effect of Giving Tea and Honey Extracts Towards Number of Germs in the Stomach of Infected Mice by Escherichia coli

Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh dan Madu Terhadap Angka Kuman Dalam Lambung Pada Tikus yang Diinfeksi *Escherichia coli*

Bimantara Lesmana¹, Seshy Tinartayu²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran UMY, ²Bagian Mikrobiologi FK UMY

ABSTRACT

Background: *Diarrhea is a disease arising from E. coli bacteria. According to the Indonesian Ministry of Health data in 2012, around 60 million cases of diarrhea occur every year in Indonesia. A mixture of tea and honey contains antibiotic substances that are useful for fighting E. coli bacteria. E. coli bacteria is a bacteria that live in the human digestive tract and if the amount of this bacterium is excessive it will cause infection in the human digestive tract. This study aims to determine the best concentration of tea and honey extract mixture against E. coli bacterial infection.*

Method: *This study is an in vivo laboratory experimental study that used the post-test-only study of the Sparaque-Dawile strain white dengue group as a study sample. There are five research groups, namely K1 (Healthy Control), K2 (Infection Control), P1 (Tea50%-Madu50%), P2 (Teh75%-Madu25%), and P3 (Teh25%-Madu75%). The next step is to observe the number of E. coli bacteria in the rat stomach then analyzed statistically by the One-Way ANOVA test followed by the LSD post-hoc test to find out the most effective treatment group.*

Results: *The research founded number of E. coli bacteria grown in the growing media. The most effective concentration for killing E. coli bacteria is a mixture of 25% tea extract and 75% honey.*

Conclusion: *The most effective concentration against E. coli bacteria is 25% tea and 75% honey.*

Keywords: *Tea and Honey, E. coli.*

ABSTRAK

Latar Belakang : Diare adalah penyakit yang timbul karena Bakteri *E.coli*. Menurut data Depkes RI tahun 2012, sekitar 60 juta kasus diare terjadi setiap tahunnya di Indonesia. Campuran teh dan madu mengandung zat antibiotik yang berguna untuk melawan bakteri *E.coli*. Bakteri *E.coli* adalah bakteri yang hidup dalam saluran pencernaan manusia dan jika jumlah bakteri ini berlebih akan menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi yang paling baik campuran ekstrak teh dan madu terhadap infeksi bakteri *E.coli*.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium in vivo yang menggunakan penelitian *the post test-only control group* dengan tikus putih galur *Sparaque-Dawley* sebagai sampel penelitian. Terdapat lima kelompok penelitian, yaitu K1(Kontrol Sehat), K2(Kontrol Infeksi), P1(Teh50%-Madu50%), P2(Teh75%-Madu25%), dan P3(Teh25%-Madu75%). Langkah selanjutnya dilakukan pengamatan jumlah angka kuman *E.coli* dalam lambung tikus kemudian dianalisis secara statistik dengan uji One-Way ANOVA dilanjutkan dengan LSD *post-hoc test* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang paling efektif.

Hasil : Ditemukannya jumlah bakteri *E.coli* yang tumbuh dalam media tanam. Konsentrasi yang paling efektif untuk membunuh Bakteri *E.coli* adalah campuran ekstrak teh 25% dan madu 75%.

Kesimpulan : Konsentrasi yang paling efektif untuk melawan Bakteri *E.coli* adalah teh 25% dan madu 75%.

Kata Kunci : Teh dan Madu, *E.coli*.

PENDAHULUAN

Teh merupakan tanaman yang mengandung polifenol yang digolongkan sebagai katekin. Katekin adalah salah satu turunan dari polifenol yang memiliki khasiat antioxidant yang tinggi (Anjarsari, 2016). Katekin juga bersifat antimikroba karena menunjukkan kemampuan merusak sel dari sebagian mikroorganisme (Alamsyah, 2006). Madu adalah cairan manis yang berasal dari nektar tanaman atau tumbuhan yang diproses oleh lebah dan disimpan dalam sel-sel sarang lebah dan mengandung zat antibiotik yang berguna untuk melawan bakteri patogen penyebab infeksi (Molan, 1992 dalam Anonim, 1998).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan flora normal di sistem pencernaan, yang dapat bertahan dalam suasana

asam karena bakteri *Escherichia coli* dapat menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar (Hardiningsih *et al.*, 2006). Kemampuan berbagai faktor virulensi bakteri *Escherichia coli* untuk mempengaruhi berbagai fungsi seluler telah menyebabkan penggunaan berbagai toksin, efektor, dan struktur permukaan sel (Maria ,2018).

Kombinasi teh dengan madu dipercaya dapat melawan bakteri di dalam tubuh. Madu dapat menambah nutrisi pada teh karena madu berperan sebagai food supplement atau sebagai obat. Sebagai obat, madu dikenal dapat mengobati luka dan memiliki daya *antibiotic* dan mengandung zat stimulator sel maupun jaringan tubuh aktif tumbuh kembangnya (Pramono, 2001). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh

pemberian ekstrak teh dan madu terhadap bakteri *Escherichia coli*.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini menggunakan eksperimen laboratorium *in vivo* dengan rancangan penelitian *the post test-only control group* yang menggunakan hewan coba tikus putih sebagai obyek penelitian. Tikus yang digunakan adalah tikus putih galur *Sparaque-Dawiley* karena galur ini dapat menimbulkan imunitas seluler apabila diinokulasikan dengan bakteri *Escherichia coli* hidup serta bersifat *susceptible* terhadap infeksi bakteri *Escherichia coli*.

Sampel penelitian berjumlah 30 ekor tikus putih bergalur *Sparaque-Dawiley* yang terbagi menjadi 5 kelompok penelitian. Kriteria inklusi dari sampel adalah : jenis kelamin jantan, umur 3 bulan, berat badan

200 gram, dan aktif sebelum diinfeksi *Escherichia coli* sedangkan kriteria eksklusinya adalah tikus putih yang mati sebelum tiba waktu observasi.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah campuran ekstrak teh dan madu dengan komposisi : teh 50% - madu 50%, teh 25% - madu 75%, dan teh 75% - madu 25%, sedangkan variabel terikatnya adalah jumlah angka kuman *Escherichia coli* dalam lambung tikus.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih, bakteri *Escherichia coli* yang didapat dari laboratorium mikrobiologi UGM, larutan ekstrak teh (*Camella sinensis*) yang dibuat di LPPT Universitas Gadjah Mada, Tikus putih yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) UGM dengan

jenis kelamin jantan, umur 3 bulan, berat badan 200-250 gram, dan sebanyak 30 ekor tikus putih, sampel berupa lambung tikus, alkohol 70% sebagai pelarut, media McConkey, dan larutan NaCl fisiologis.

Suspense bakteri *Escherichia coli* dibuat dengan dikultur di dalam media *Trypticase Soy Agar* (TSA), kemudian diinkubasi dalam suhu 37⁰ C selama 24 jam. *Escherichia coli* selanjutnya diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis 90% menjadi 10⁶ dan siap diberikan pada tikus putih kelompok control dan perlakuan 1-3.

Teh kering dibuat serbuk teh atau simplisia yang kemudian ditambahkan pelarut etanol 70%, selanjutnya melalui proses filtrasi yang selanjutnya akan menghasilkan maserat dan diuapkan lalu berakhir

dengan hasil ekstrak yang kental. Pencampuran ekstrak teh dengan madu murni dilakukan di LPPT Universitas Gajah Mada dan dibagi menjadi tiga macam perlakuan berdasarkan komposisinya : Teh 50% - Madu 50%, Teh 25% - Madu 75%, Teh 75% - Madu 25%.

Tikus putih diadaptasikan selama satu minggu, kemudian sebanyak 30 ekor tikus putih terbagi menjadi lima kelompok penelitian. Kelompok P1-3 diberi bakteri *Escherichia coli* secara per-oral dengan dosis yang sudah ditentukan, setelah 24 jam kelompok P1-3 kemudian diberi pakan standar dan larutan ekstrak teh dan madu dengan dosis (P1) ekstrak larutan teh 50%-madu 50% 3 kali sehari, (P2) ekstrak larutan teh 75%-madu 25% 3 kali sehari, (P3) ekstrak larutan teh 25%-madu 75% 3 kali sehari, ekstrak

teh dan madu diberikan selama 7 hari pada tikus yang terinfeksi *E.coli*. Kelompok K1 merupakan control sehat tanpa perlakuan dan kelompok K2 diberi pakan standar selama 7 hari kemudian dilakukan infeksi *Escherichia coli* secara peroral namun tidak diberi larutan ekstrak teh dan madu. Hari ke-7 semua tikus putih dianastesi terlebih dahulu dan setelah itu dilakukan euthanasia dengan cara dislokasi leher untuk mengurangi rasa penderitaan hewan coba sebelum pengambilan lambung pada tikus putih untuk pemeriksaan angka kuman dalam lambung.

Lambung tikus putih diambil menggunakan gunting medis dan dihomogenisasi dengan 10 ml larutan NaCl fisiologis kemudian hasil homogenisasi dibuat pengenceran $10^1 - 10^4$ dengan diambil 1 ml dari

masing-masing pengenceran. Setelah itu disuspensi dengan konsentrasi 10^3 dan 10^4 dan ditanam pada media agar MacConkey untuk mendeteksi jumlah angka kuman *Escherichia coli*. Media selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dihitung koloni kuman yang tumbuh dan selanjutnya koloni ditanam pada media KIA, LIA, SSS, dan MIO. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memastikan bahwa yang tumbuh adalah bakteri *Escherichia coli*.

Data akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji one-way ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan LSD *Post-Hoc Test* untuk membandingkan perbedaan *mean different* antara kelompok perlakuan.

HASIL

Hasil pengamatan terhadap jumlah bakteri *Escherichia coli* pada lima kelompok penelitian, yaitu

ditemukan adanya Bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada sampel lambung tikus.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Angka Kuman dalam Lambung

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Teh 50% - Madu 50%	Teh 25% - Madu 75%	-193433.333*	36748.013	.000	-275313.01	-111553.66
	Teh 75% - Madu 25%	-12766.667	36748.013	.735	-94646.34	69113.01
	Kontrol 1	-2266.667	36748.013	.952	-84146.34	79613.01
	Kontrol 2	4066.667	36748.013	.914	-77813.01	85946.34
Teh 25% - Madu 75%	Teh 50% - Madu 50%	193433.333*	36748.013	.000	111553.66	275313.01
	Teh 75% - Madu 25%	180666.667*	36748.013	.001	98786.99	262546.34
	Kontrol 1	191166.667*	36748.013	.000	109286.99	273046.34
	Kontrol 2	197500.000*	36748.013	.000	115620.32	279379.68
Teh 75% - Madu 25%	Teh 50% - Madu 50%	12766.667	36748.013	.735	-69113.01	94646.34
	Teh 25% - Madu 75%	-180666.667*	36748.013	.001	-262546.34	-98786.99
	Kontrol 1	10500.000	36748.013	.781	-71379.68	92379.68
	Kontrol 2	16833.333	36748.013	.657	-65046.34	98713.01
Kontrol 1	Teh 50% - Madu 50%	2266.667	36748.013	.952	-79613.01	84146.34
	Teh 25% - Madu 75%	-191166.667*	36748.013	.000	-273046.34	-109286.99
	Teh 75% - Madu 25%	-10500.000	36748.013	.781	-92379.68	71379.68
	Kontrol 2	6333.333	36748.013	.867	-75546.34	88213.01
Kontrol 2	Teh 50% - Madu 50%	-4066.667	36748.013	.914	-85946.34	77813.01
	Teh 25% - Madu 75%	-197500.000*	36748.013	.000	-279379.68	-115620.32
	Teh 75% - Madu 25%	-16833.333	36748.013	.657	-98713.01	65046.34
	Kontrol 1	-6333.333	36748.013	.867	-88213.01	75546.34

Signifikansi perbedaan rerata tiap kelompok terjadi apabila (p) < 0,05. Interpretasi data di atas adalah bahwa terdapat perbedaan rerata signifikansi

pada kelompok P2. Tidak terdapat perbedaan rerata signifikansi pada kelompok K1, K2, P1, dan P3.

Kelompok P2 adalah kelompok ekstrak Teh 25% dan Madu 75%.

PEMBAHASAN

Terdapat bakteri *Escherichia coli* pada lambung tikus karena bakteri *E. coli* memiliki lapisan peptidoglikan yang mengandung jangkar protein sebagai pencegah difusi lateral dalam membran luar. Selain itu, peptidoglikan pada bakteri ini berketergantungan pada lingkungan asam atau pH rendah sehingga memudahkan bakteri ini bertahan dalam kondisi asam (Jack C. Leo *et al.* 2014). Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme yang hidup secara normal di sistem pencernaan manusia dan ada dalam beberapa jam setelah bayi lahir. Bakteri *Escherichia coli* dan manusia sebagai *host* biasanya hidup berdampingan dalam keadaan sehat dan menguntungkan satu sama lain.

Bakteri *Escherichia coli* jarang menyebabkan penyakit kecuali pada *immunocompromised* atau adanya sumbatan pada gastrointestinal, contohnya adalah peritonitis (Maria, 2018).

Evolusi bakteri *Escherichia coli* patogen yang telah menghasilkan pembentukan *pathotypes* berbeda yang mampu berkolonisasi di saluran gastrointestinal menggambarkan bagaimana strain genetik dapat beradaptasi ke lingkungan host yang berbeda. Proses evolusi telah menghasilkan spesies yang sangat yang mampu mampu berkolonisasi, melipatgandakan, dan merusak lingkungan yang beragam. Aktivitas sel inang yang dipengaruhi oleh strain patogen *E. coli* ini mencakup spektrum fungsi yang luas, termasuk transduksi sinyal, sintesis protein, fungsi mitokondria, fungsi

sitoskeletal, pembelahan sel, sekresi ion, transkripsi dan apoptosis. Kemampuan berbagai faktor virulensi bakteri *Escherichia coli* untuk mempengaruhi berbagai fungsi seluler telah menyebabkan penggunaan berbagai toksin, efektor, dan struktur permukaan sel (Maria, 2018).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan faktor eksogen yang dapat menyerang lambung dalam keadaan tertentu sehingga sistem biologis yang kompleks dibentuk untuk menyediakan pertahanan dari kerusakan mukosa dan untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi (Kasper *et al.*, 2008). Keadaan patofisiologi ini dapat diatasi karena keadaan lambung yang asam. Keasaman lambung dipengaruhi oleh asam klorida atau HCl sehingga membuat pH lambung asam, yaitu

sekitar 2 – 3,5 (Lu Pj *et al.* 2010).

Asam klorida dihasilkan oleh sel parietal dalam lambung yang berfungsi sebagai agen bakterisidal yang membunuh bakteri yang tertelan bersama makanan (Wijayanti, 2017). Selain itu, asam lambung (HCl) juga tidak hanya mencegah atau menangkal bakteri yang masuk ke dalam sistem pencernaan manusia tetapi juga dapat menurunkan angka bakteri yang masuk melalui sistem epitel yang sehat (IPD, 2015).

Pemberian teh dan madu pada tikus terbukti efektif menurunkan jumlah angka bakteri *Escherichia coli* dalam ekstrak lambung. Hal ini disebabkan karena teh dan madu memiliki daya antibakteri. Beberapa kandungan dalam teh, salah satunya adalah polifenol yang terkandung dalam teh dan digolongkan sebagai katekin.

Katekin merupakan senyawa kompleks yang termasuk dalam golongan flavonoid dan merupakan kelas flavanol serta memiliki potensi sebagai antibakteri, antivirus, dan antiradang (Bahtiar, 2007). Katekin bersifat antimikroba karena menunjukkan kemampuan merusak sel dari sebagian mikroorganisme (Alamsyah, 2006). Katekin pada daun teh merupakan senyawa yang sangat kompleks dan tersusun sebagai komponen senyawa katekin (C), epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), epigalokatekin (EGC), galokatekin (GC), dan kandungan mayor yaitu epigalokatekin galat (EGCG). Senyawa katekin adalah senyawa paling penting pada daun teh yang berfungsi sebagai antioksidan yang menyehatkan tubuh (Balitri, 2013). Mekanisme EGCG menghambat bakteri yaitu dengan

menyintesis asam lemak tipe 2 pada sitoplasma yang kemudian akan merusak membran sitoplasmabakteri (Arakawa *et al.* 2004). Kandungan hidrogen peroksida yang tinggi pada madu dipercaya dapat menjadi antibakteri. Hidrogen peroksida merupakan sumber utama kemampuan antibakteri dari madu yang dihasilkan dari reaksi enzim glukosa oksidase (glukosidase) dalam madu, khususnya glukosa (Puspitasari, 2007). Selain itu, madu juga memiliki tingkat osmolaritas yang tinggi. Osmolaritas madu merupakan komponen penting yang membantu membatasi pertumbuhan dan proliferasi bakteri (Al-Waili *et al.* 2011). Tingkat karbohidrat yang tinggi seperti fruktosa, glukosa, maltose, sukrosa, dan bentuk karbohidrat yang lain bertanggungjawab untuk tingginya

osmolaritas madu (Ruttermann et al., 2013). Glukosa dan karbohidrat dapat mengikat molekul air (Moore et al., 2001). Hal ini menyebabkan bakteri tidak mendapatkan cukup air untuk tumbuh. Akhirnya bakteri menjadi dehidrasi dan kemudian mati. Madu juga memiliki kadar pH yang rendah sebagai mekanisme pertahanan antibakteri. Rentang pH madu adalah 3,2-4,5 yang menandakan bahwa madu termasuk asam. Keasaman madu disebabkan adanya asam glukonat yang merupakan hasil reaksi glukosa oksidase dengan glukosa (Bittmann et al., 2010). Madu menyediakan lingkungan asam yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri dan menghambat aktivitas banyak mikro – organisme (Brudzynski et al., 2011). Madu juga dapat menstimulasi B-limfosit dan T-

limfosit serta mengaktivasi neutrophil yang bertugas untuk memfagositosis bakteri (Singh et al., 2012). Madu juga dapat menstimulasi sekresi sitokin yang menginduksi penyembuhan luka, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) dan interleukin-6 (IL-6) sebagai aktivator respon imun terhadap infeksi (Molan, 2002). Studi secara in-vitro menemukan bahwa tingkat toksisitas madu terhadap keratinosit dan fibroblast sangatlah rendah (Burlando & Cornara, 2013). Pemberian ekstrak teh 25% dan madu 75% terbukti efektif menurunkan jumlah angka bakteri *Escherichia coli* dalam ekstrak lambung. Madu memiliki kandungan hidrogen peroksida yang ampuh sebagai antibakteri. Studi mengatakan jika semakin tinggi konsentrasi madu, semakin tinggi

pula hidrogen peroksida yang terbentuk. Madu dengan konsentrasi 75% memiliki aktivitas enzim glukosa oksidase yang suboptimal (Bang *et al.*, 2003). Kadar konsentrasi teh hijau yang rendah ditemukan efektif untuk melawan bakteri, sedangkan madu dengan kadar konsentrasi yang tinggi lebih efektif untuk melawan bakteri (Chowdaiah *et al.*, 2017). Daya antibakteri campuran teh dan madu lebih kuat daripada masing-masing daya antibakteri teh dan madu (Samanta *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Terdapat bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada media tanam pada sampel lambung pada tikus yang diinfeksi Bakteri *Escherichia coli*. Pemberian teh 25% dan madu 75% terbukti efektif menurunkan

jumlah angka bakteri *Escherichia coli* dalam ekstrak lambung.

SARAN

Diperlukan penelitian lanjutan terhadap campuran ekstrak teh dan madu sampai dengan dosis yang dianjurkan untuk dikonsumsi manusia sebagai pengendali atau terapi anti sepsis atau infeksi bakteri.

REFERENSI

- Al-Waili, N., Salom, K., Butler, G. & Al Ghamdi, A., 2011. Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control.. 14(10).
- Alamsyah. A. 2006. *Taklukan Penyakit dengan Teh Hijau*. Agromedia Pustaka, Tangerang.
- Anjarsari, 2016, *Katekin Teh Indonesia : Prospek dan Manfaatnya*, Universitas Padjajaran
- Arakawa H., Maeda M., Okubo S., Shimamura T., 2004. Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. Tokyo, Japan.
- Bahtiar, M. 2007. *Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan Tubuh*. PT Agromedia Pustaka, Jakarta
- Balitri, Juniaty Towaha, 2013, *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*
- Bang, L., Bunting, C. & Molan, P., 2003. The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. 9
- Bittmann, S. et al., 2010. Does honey have a role in paediatric wound management? 19(15)
- Brudzynski, K., Abubaker, K., St-Martin, L. & Castle, A., 2011. Reexamining the role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of honey. 2
- Burlando, B. & Cornara, L., 2013. Honey in dermatology and skin care: a review. 12
- Chowdaiah M, Dhamodhar P. Antibacterial properties of honey and green tea extracts against multidrug resistant *Streptococcus mutans* isolated from dental plaque samples. Int. J. Pharm. Bio. Sci. 2017; 8(2):(B)547-552.
- Fauci, Anthony S., Kasper, Dennis L., Longo, Dan L., Braunwald, Eugene., Hauser, Stephen L., Jameson, J. Larry., 2008, *Haarison's Principles of Internal Medicine*, 7Ed, McGrawHill's, USA, Chapter 287. Peptic Ulcer Disease and Related Disorders.
- Hardiningsih R, Naputupulu RNR, Yulinery T. 2006. Isolasi dan uji resistensi beberapa isolat pada pH rendah. J Biodiversitas 7:15-17. DOI:10.13057/biodiv/d070105.
- Interna Publishing. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 2015
- Jack C. Leo, Philipp Oberhettinger, Manish Chaubey, Monika Schütz, Daniel Kühner, Ute Bertsche, Heinz Schwarz, Friedrich Götz, Ingo B. Autenrieth, Murray Coles, Dirk Linke. **The Intimin periplasmic domain mediates dimerisation and binding to peptidoglycan.** *Molecular Microbiology*, 2015; 95 (1): 80 DOI
- Lu PJ, Hsu PI, Chen CH, Hsiao M, Chang WC, Tseng HH, et al. Gastric juice acidity in upper gastrointestinal diseases. *World Journal of*

Gastroenterology. 2010;43(16):5496-501.

Maria Ulfa, 2018, Patogenesis *Escherichia coli*, Yogyakarta

Molan, P.C. 1998. The evidence for honey promoting wound healing. *Primary Intention (The Australian Journal of wound management)*. 6: 148-158.

Molan, P., 2002. Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers e theory and practice. 48

Moore, O. et al., 2001. Systematic review of the use of honey as a wound dressing. 1.

Pramono, Kartini, 2001. *Produk Lebah : Madu dan Pollen Sebagai Makanan Alternatif untuk Menjaga Kesehatan*. Seminar Nasional, FTP UNISRI, Surakarta.

Puspitasari, Ika. 2007. *Rahasia Sehat Madu*. Jogjakarta : B-First (PT.Bentang Pustaka)

Ruttermann, M., Maier-Hasselmann, A., Nink-Grebe, B. & Burckhardt, M., 2013. Local treatment of chronic wounds : inpatients with peripheral vascular disease, chronic venous insufficiency, and diabetes. 110(3).

Samanta A, Patra A, Mandal S, Pradhan M, Saha A, Bhattacharjee D *et al*. Combined Antimicrobial Activity of Honey and Commercial Green Tea Extract against Some Pathogenic Bacterial Species. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2017; 45(1):192-198

Singh, M. et al., 2012. Honey as complementary medicine: a review. 3

Wijayanti, Novita, 2017, *Fisiologi Manusia dan Metabolisme Zat Gizi*, Malang