

Laporan Penelitian

Perbedaan efek ekstrak madu lebah galo-galo (*heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm pseudomonas aeruginosa*: Studi eksperimental

Dina Auliya Amly¹
Resa Ferdina²
Wulan Julianingsih³

¹Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah, Padang, Indonesia

²Departemen Prosthodonti, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah, Padang, Indonesia

³Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah, Padang, Indonesia

*Korespondensi:

Dinaaulyaamly@gmail.com

Submisi: 17 Mei 2025

Revisi : 27 Mei 2025

Penerimaan: 27 Juni 2025

Publikasi Online: 28 Juni 2025

DOI: [10.24198/pjdrs.v9i2.61755](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v9i2.61755)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif yang resisten terhadap *antibiofilm* dan patogen utama penyebab infeksi nosokomial. Hal ini dapat dicegah dengan *chlorhexidine* tetapi bahan ini dapat menyebabkan iritasi mulut. Salah satu bahan alternatif adalah madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) memiliki berbagai kandungan *antibiofilm*, yaitu fruktosa, hidrogen peroksida dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*. **Metode:** Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental. Ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) diperoleh dengan cara disentrifugasi lalu diambil supernatannya kemudian dilakukan uji aktivitas *antibiofilm* dan diukur absorbansinya (λ 540 nm). Analisis statistik parametrik ANOVA Welch menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efek hambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa* yang signifikan ($p < 0,05$) diantara kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*). Uji *post hoc Games Howell* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antara konsentrasi 0,09% dengan konsentrasi 0,19%, dan 0,39%. **Results:** Peningkatan signifikan ($p < 0,05$) teridentifikasi pada konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78% dengan konsentrasi $\leq 0,39\%$. Peningkatan signifikan *antibiofilm* yang lainnya juga ditemui pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% dengan konsentrasi $\leq 6,25$, lebih lanjut perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) juga ditemui antara konsentrasi 50% dengan 25% dan 12,5%, serta konsentrasi 25% dengan 12,5%. **Simpulan:** terdapat perbedaan efek ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) maka semakin efektif dalam menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*.

KATA KUNCI: Ekstrak, madu, *Heterotrigona itama*, *biofilm*, *Pseudomonas aeruginosa*.

The Effect Of Galo-Galo honey extract (*Heterotrigona itama*) on The Formation Of *Pseudomonas aeruginosa* BIOFILM: Study experimental

ABSTRACT

Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative bacterium resistant to *antibiofilm* agents and a major pathogen responsible for nosocomial infections. This can be prevented with *chlorhexidine*; however, this substance may cause oral irritation. One natural alternative is Galo-galo bee honey (*Heterotrigona itama*), which contains various *antibiofilm* components, including fructose, hydrogen peroxide, and flavonoids. This study aims to analyze the effect of Galo-galo bee honey extract on the *biofilm* formation of *Pseudomonas aeruginosa*. **Methods:** The research was conducted using an experimental method. The Galo-galo bee honey extract was obtained through centrifugation, and the supernatant was then used for *antibiofilm* activity testing, measuring absorbance at 540 nm (λ 540 nm). Parametric statistical analysis using ANOVA Welch indicated significant differences in the inhibitory effects on *biofilm* formation of *Pseudomonas aeruginosa* among the treatment groups with different concentrations of Galo-galo bee honey extract ($p < 0.05$). *Post hoc Games Howell* tests revealed no significant difference ($p > 0.05$) between the 0.09% concentration and the 0.19% and 0.39% concentrations. **Results:** Significant increases ($p < 0.05$) were identified at concentrations of 6.25%, 3.125%, 1.56%, and 0.78% compared to concentrations $\leq 0.39\%$. Other significant increases were also found at concentrations of 50%, 25%, and 12.5% compared to concentrations $\leq 6.25\%$, with further significant differences ($p < 0.05$) observed between the 50% concentration and both the 25% and 12.5% concentrations, as well as between the 25% and 12.5% concentrations. **Conclusion:** There is a different effect of Galo-galo bee honey extract on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* *biofilm*. Higher concentrations of Galo-galo bee honey extract are more effective in inhibiting *biofilm* formation by *Pseudomonas aeruginosa*.

KEY WORDS: Extract, honey, *Heterotrigona itama*, *Biofilm*, *Pseudomonas aeruginosa*.

PENDAHULUAN

Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen dan merupakan penyebab utama tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) di fasilitas kesehatan termasuk rumah sakit gigi dan mulut. Infeksi ini dikenal dengan istilah infeksi nosokomial ketika pasien dirawat di rumah sakit.¹ Infeksi nosokomial pertama kali muncul 48 jam lebih setelah masuk rumah sakit atau hingga 3 hari setelah keluar dari rumah sakit.² Berdasarkan data pengamatan dilakukan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, diketahui bahwa infeksi nosokomial diperkirakan mencapai 15,74%. Hal ini jauh lebih tinggi dibandingkan negara maju yang berkisar 4,8-15,5%. Salah satu bakteri patogen penyebab infeksi nosokomial adalah *Pseudomonas aeruginosa*.³

Rongga mulut bertindak seperti pintu gerbang utama bagi mikroorganisme. *Pseudomonas aeruginosa* dapat ditransmisikan ke rongga mulut melalui penggunaan protesa gigi dan *Dental Unit Waterlines (DUWLs)*.^{4,5} *Pseudomonas aeruginosa* sering ditemukan pada *biofilm* rongga mulut yang terbentuk di permukaan supragingival, subgingival, mukosa oral dan dorsum lidah.^{6,7} Bakteri patogen ini telah lama diketahui sebagai bakteri yang berkoloni secara persisten dengan prevalensi tertinggi pada rongga mulut pasien *Intensive Care Unit (ICU)* yang menggunakan ventilator.⁸ Bakteri ini juga tetap ditemukan pada periapikal gigi pasca perawatan endodontik kasus periodontitis apikalis.⁹

Pseudomonas aeruginosa adalah basil Gram-negatif patogen oportunistik dengan kemampuan khusus menyebabkan penyakit pada subjek dengan sistem kekebalan tubuh yang melemah.¹⁰ Pembentukan *biofilm* diawali oleh kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* melekat pada sel epitel rongga mulut dan dihubungkan dengan adanya adhesin *Pseudomonas aeruginosa*, yang akan berikatan dengan reseptor sel epitel rongga mulut.¹¹ Upaya untuk mengatasi pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa* telah dilakukan, salah satunya dengan penggunaan obat kumur *chlorhexidine*. Penggunaan klorheksidin jangka panjang juga menyebabkan iritasi mulut, lidah dan pewarnaan gigi yang membuat kurang estetik. Selain itu, penggunaan berkelanjutan dapat memicu evolusi resistensi bakteri sehingga mengurangi efektivitasnya.¹² Perlu upaya alternatif dalam mencegah pembentukan *biofilm*.

Bahan alternatif yang dapat difungsikan sebagai bahan antibiofilm salah satunya adalah madu lebah Galo-galo tak bersengat (*Heterotrigona itama*).¹³ Madu lebah Galo-galo dibudidayakan karena menjadi salah satu sumber pendapatan salah satunya di Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat.¹⁴

Madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) mempunyai warna khas yaitu warna coklat atau kuning pekat.¹⁵ Madu identik dengan rasa manis, terkecuali madu Galo-galo. Jika dibandingkan dengan madu lebah biasa, madu Galo-galo memiliki kekentalan yang lebih rendah dengan kadar asam antara 3,05 hingga 4,55.¹⁶ Selain itu, lebah Galo-galo mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan dengan lebah madu biasa, yaitu efektifitas mencari nektar yang lebih karena tubuhnya yang lebih kecil sehingga dapat mengakses bunga yang berukuran kecil serta dengan harga jual yang tinggi.¹⁷

Madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) sering dikonsumsi karena khasiatnya untuk meningkatkan kesehatan. Hal ini dihubungkan dengan kandungan kimia yang sangat kompleks seperti mineral, vitamin, asam lemak dan karbohidrat (glukosa, fruktosa dan glukosa).^{14,17,18} Madu lebah Galo-galo juga memiliki hidrogen peroksida, flavonoid, senyawa fenolik, dan peptida antibakterial yang berperan sebagai antibakteri.^{14,18} Beberapa penelitian telah melaporkan berbagai manfaat madu lebah Galo-galo, antara lain termasuk sifat antimikroba, anti perlekatan dan antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan madu biasa, karena bunga Galo-galo memiliki potensi untuk menghasilkan nektar yang kaya akan zat-zat ini.^{14,18,19}

Penelitian lainnya juga menemukan bahwa madu Manuka (*Leptospermum scorparium*) dapat menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*.¹⁹ Hal ini dikarenakan, komponen fruktosa dari madu dapat menghambat ikatan adhesin *Pseudomonas aeruginosa* sehingga mengakibatkan bakteri ini tidak melekat pada sel epitel yang mengarah pada penurunan pembentukan *biofilm*.¹¹ Adanya kesamaan kandungan madu lebah manuka dan

madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) maka diperkirakan madu lebah Galo-galo dapat menjadikan madu ini sebagai alternatif *antibiofilm* terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Keterbaruan penelitian ini terletak pada penggunaan ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) sebagai agen antibiofilm dengan pengujian berbagai konsentrasi yang belum banyak diteliti sebelumnya, serta pembuktian secara signifikan kemampuan madu ini menghambat pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*.

METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis seberapa baik ekstrak madu tersebut dapat menghambat perkembangan biofilm bakteri yang dikenal sebagai patogen oportunistik.

Populasi penelitian terdiri dari kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sampel yang digunakan adalah suspensi bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^5$ CFU/ml, yang dibagi menjadi 13 kelompok. Setiap kelompok menerima perlakuan berbeda, dari ekstrak madu dengan konsentrasi konsentrasi 0,09%, 0,19%, 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%, juga kontrol positif menggunakan chlorhexidine 0,2% dan kontrol negatif dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Besar sampel ditentukan menggunakan rumus Federer, yang menghasilkan total 39 sampel dengan pengulangan tiga kali untuk setiap kelompok. Variabel independen dalam penelitian ini adalah ekstrak madu lebah Galo-galo, sementara variabel dependen adalah pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*.

Definisi operasional variabel dijelaskan secara rinci, mencakup hasil ekstraksi madu dan pengukuran pembentukan biofilm melalui metode kristal violet. Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli hingga November 2024 di beberapa lokasi, termasuk Laboratorium Bioekologi Serangga Universitas Andalas untuk identifikasi lebah, Laboratorium Farmasi Universitas Andalas untuk pembuatan ekstrak, dan Laboratorium Riset Terpadu untuk pengujian biofilm.

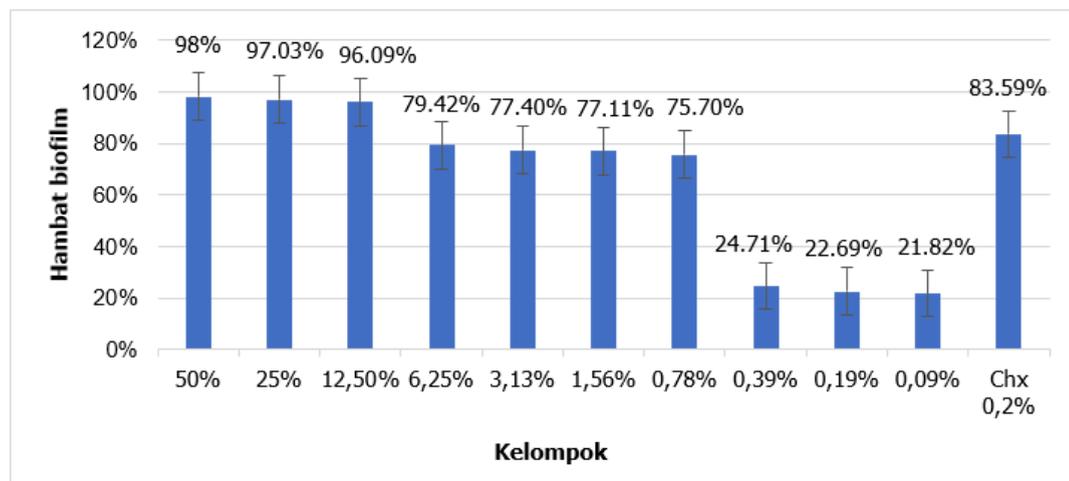
Setelah itu, kultur bakteri disiapkan dan diekspos pada ekstrak madu. Madu lebah Galo-galo yang digunakan diperoleh dari peternakan di Fakultas Peternakan Universitas Andalas dan diproses untuk menghasilkan ekstrak yang homogen.

Pengujian dilakukan dengan menanamkan ekstrak madu pada kultur bakteri yang telah dikultur sebelumnya. Pembentukan biofilm dievaluasi setelah 24 jam inkubasi dengan menggunakan pewarnaan kristal violet, diikuti dengan pengukuran absorbansi untuk menentukan efektivitas penghambatan biofilm.

Analisis data dilakukan dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Data yang berdistribusi normal akan diuji menggunakan One Way Anova dan dilanjutkan dengan uji Post Hoc Games Howell untuk analisis lebih mendalam.

HASIL

Uji aktivitas *antibiofilm* ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan metode *microtiter plate* ditunjukkan pada gambar 1, ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) mulai menghambat pembentukan *biofilm* pada konsentrasi 0,09% dengan persentase hambat *biofilm* terkecil 21,82%, sedangkan konsentrasi 50% memiliki persentase hambat *biofilm* tertinggi sebesar 98%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek penghambatan pembentukan *biofilm* semakin meningkat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*).



Gambar 1. Hasil pengukuran *antibiofilm* ekstrak madu lebah galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap *Biofilm Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan homogenitas *Levene Test* menunjukkan nilai $p > 0,05$ (Tabel 1) dan $p < 0,05$ (Tabel 2), yang mengindikasikan bahwa data terdistribusi normal, namun mempunyai varian yang berbeda (tidak homogen).

Tabel 1. Hasil uji *shapiro-wilk antibiofilm*

Konsentrasi	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Statistic	df	Nilai p
50%	0,964	3	0,637
25%	1,000	3	1,000
12,5%	1,000	3	1,000
6,25%	0,954	3	0,588
3,125%	0,999	3	0,948
1,56%	0,916	3	0,439
0,78%	0,775	3	0,056
0,39%	0,929	3	0,485
0,19%	0,942	3	0,537
0,09%	0,949	3	0,567
Chlorhexidine	0,803	3	0,122

Tabel 2. Hasil Uji *Levene Test Antibiofilm*

Variabel	<i>Levene Statistic</i>	Nilai p
Hambat <i>biofilm</i>	2,611	0,003

Uji parametrik *One Way ANOVA Welch* menandakan bahwa terdapat perbedaan rerata dari penghambatan *biofilm* yang signifikan ($p < 0,05$) di antara kelompok ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) (Tabel 2). Hal ini berarti terdapat pengaruh ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan hipotesis penelitian maka H_0 ditolak dan H_a diterima yang berarti bahwa terdapat pengaruh ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 3. Hasil Uji *One way ANOVA Welch Antibiofilm*

	Statistic	df1	df2	Nilai p
<i>Welch</i>	20290.647	10	8.512	0,000*

Keterangan:

df : *degree of freedom*

Sig : signifikansi

*: berbeda signifikan ($p < 0,05$)

Hasil uji *Post Hoc Games-Howell* pada tabel 3 menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) konsentrasi 0,09% dengan konsentrasi 0,39% dan konsentrasi 0,19%. Peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) teridentifikasi pada konsentrasi

6,25%, 3,125%, 1,56% dan 0,78% dengan konsentrasi 0,39%, 0,19%, dan 0,09%, namun tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,56% dan 0,78%. Peningkatan signifikan ($p < 0,05$) yang lainnya juga ditemui pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dengan konsentrasi $\leq 6,25\%$, lebih lanjut perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) juga ditemui antara konsentrasi 50% dengan 25% dan 12,5%, serta konsentrasi 25% dengan 12,5%.

Tabel 4. Uji post hoc games howell antibiofilm

Kelompok (%)	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09	Chx 0,2
50	0,00*	0,00*	0,01*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
25		0,00*	0,01*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
12,5			0,01*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
6,25				0,67	0,57	0,26	0,00*	0,00*	0,00*	0,20*
3,125					0,99	0,43	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
1,56						0,59	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
0,78							0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
0,39								0,13	0,05	0,00*
0,19									0,32	0,00*
0,09										0,00*

Keterangan *= beda signifikan ($p < 0,05$).

□ = Konsentrasi ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*)

□ = Kontrol positif

PEMBAHASAN

Madu merupakan salah satu produk lebah yang telah dilaporkan memiliki aktivitas anti*biofilm*. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) secara signifikan dapat menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0,05$) (Tabel 3). Penelitian ini didukung oleh penelitian Mohammad dkk.,²⁰ sebelumnya bahwa ekstrak madu Trigona memiliki aktivitas menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Camplin & Maddocks menunjukkan bahwa madu Manuka (*Leptospermum scorparium*) dapat menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*. Diketahui madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*), madu Trigona dan madu Manuka (*Leptospermum scorparium*) merupakan madu lebah tanpa sengat yang menunjukkan aktivitas anti*biofilm* terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*), madu Trigona dan madu Manuka (*Leptospermum scorparium*) juga memiliki kandungan yang sama, yaitu fruktosa, hidrogen peroksida dan flavonoid yang dapat menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*.¹⁹

Kemampuan madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) dalam menghambat *biofilm Pseudomonas aeruginosa* dihubungkan dengan komponen anti*biofilm* yang terdapat di lebah madu Galo-galo (*Heterotrigona itama*). Diketahui kandungan madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) yang telah teridentifikasi memiliki aktivitas anti*biofilm* adalah fruktosa dan hidrogen peroksida.¹⁴ Komponen fruktosa dari madu dapat menghambat ikatan adhesin *Pseudomonas aeruginosa* sehingga mengakibatkan bakteri ini tidak melekat pada sel epitel yang mengarah pada penurunan pembentukan *biofilm*.¹¹

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) dalam menghambat *biofilm Pseudomonas aeruginosa* dimulai dari konsentrasi terendah 0,09% yaitu sebesar 21,82%. Kemampuannya dalam menghambat pembentukan *biofilm* semakin meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Kemungkinan hal ini dikarenakan semakin tingginya ekstrak madu lebah Galo-galo maka semakin tinggi kandungan komponen anti*biofilm* yang terdapat pada madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mohammad dkk.,²⁰ menunjukkan aktivitas anti*biofilm* madu Trigona mulai menghambat pembentukan *biofilm* pada konsentrasi 10% dengan persentase hambat *biofilm* 9%. Berbeda halnya dengan penelitian ini bahwa madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) dapat menghambat pembentukan *biofilm* dimulai dari konsentrasi 0,09% dengan persentase hambat *biofilm* 21,82%. Perbedaan kemampuan anti*biofilm* madu ini dapat disebabkan karena perbedaan spesies lebah yang diteliti, lokasi geografis, lingkungan dan waktu panen madu yang berpengaruh pada

komposisi nektar dan kondisi iklim yang berbeda sehingga memengaruhi komponen yang terdapat di dalam madu.⁸

Diketahui bahwa perbedaan spesies lebah berpengaruh pada kadar air dan pH madu. Madu yang dihasilkan oleh lebah tanpa sengat memiliki kadar air lebih tinggi dan pH lebih rendah dibandingkan dengan madu lebah bersengat. Tingginya kadar air dan rendahnya pH dapat mempengaruhi aktivitas antimikrobal dalam madu dan membuat bakteri tidak bertahan lama.²¹ Lokasi geografis juga memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kandungan anti*biofilm* fruktosa dan hidrogen peroksida dalam madu, seperti yang ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Mohammed yang membandingkan madu dari dua wilayah di Arab Saudi, yaitu Asir dan Jazan.²¹

Penelitian tersebut menemukan bahwa madu Akasia dari Asir yang terletak di daerah beriklim dingin memiliki kandungan fruktosa dan hidrogen peroksida yang lebih rendah dibandingkan dengan madu Ziziphus dan poliflora dari Jazan, yang berada di daerah beriklim panas. Pentingnya mempertimbangkan baik asal geografis maupun asal bunga penghasil nektar saat mengembangkan standar kualitas madu, karena keduanya dapat memengaruhi parameter kualitas seperti kelembaban, keasaman, dan aktivitas enzim dalam madu.²¹

Perbedaan cuaca juga memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kualitas madu yang dihasilkan oleh lebah misalnya, kelembapan tinggi akibat hujan dapat membuat madu lebih encer dan mempengaruhi rasanya. Kondisi penyimpanan madu yang tidak tepat, seperti disimpan terlalu lama dapat menyebabkan penurunan signifikan dalam kualitas dan kuantitas madu yang mempengaruhi komponen anti*biofilm* madu.^{22,23}

Proses awal pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa* dimulai dengan pelekatan sel planktonik pada permukaan substrat kemudian menjadi permanen melalui pembentukan matriks ekstraseluler. Selanjutnya bakteri membentuk mikrokoloni dan mengembangkan struktur *biofilm* yang lebih kompleks. Namun, madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) dapat menghambat proses ini karena sifat anti*biofilm* yang efektif. Madu mengurangi kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* untuk berkoloni dan membentuk *biofilm* sehingga membuat alternatif alami dalam pengendalian *biofilm*.^{19,20}

Madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) memiliki kandungan mencegah bakteri melekat pada permukaan epitel sehingga infeksi bakteri tidak terjadi. Kandungan fruktosa dari madu dapat menghambat ikatan adhesin *Pseudomonas aeruginosa* sehingga mengakibatkan bakteri ini tidak melekat pada sel epitel yang mengarah pada penurunan pembentukan *biofilm*.¹¹ Madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) juga mengandung peptida antibakterial yang dapat mengganggu stabilisasi membran sel bakteri serta hidrogen peroksida yang dapat membunuh bakteri dengan melepaskan oksigen reaktif saat berkontak dengan enzim katalase.¹⁴ Madu ini juga, mengandung senyawa asam fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri dan dapat mengurangi kemampuan bakteri untuk membentuk *biofilm*.^{14,18}

Chlorhexidine merupakan anti*biofilm* yang bekerja dengan merusak membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran komponen seluler yang penting dalam menghambat pembentukan *biofilm*. *Chlorhexidine* juga menghambat proses adhesi awal bakteri pada permukaan yang mengurangi kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* untuk membentuk *biofilm* pada tahap awal. Sejalan dengan hasil penelitian ini bahwa *chlorhexidine* 0,2% dapat menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa* sebesar 83% (Gambar 1). Efeknya dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan ekstrak konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% namun efeknya lebih tinggi secara signifikan pada konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19% dan 0,09% (Tabel 4). Berbeda dengan madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) memiliki kandungan fruktosa dan hidrogen peroksida yang dapat merusak matriks ekstraseluler *biofilm*, melemahkan pertahanan *biofilm* serta mempermudah penetrasi agen anti*biofilm*. Selain itu, madu tidak menyebabkan resistensi mikroba, menjadikannya pilihan yang lebih aman dan efektif dalam mengatasi *biofilm Pseudomonas aeruginosa* di rongga mulut.^{11,24}

Uji One Way ANOVA Welch menunjukkan perbedaan rerata yang signifikan ($p < 0,05$) dalam penghambatan *biofilm* antar kelompok ekstrak madu Galo-galo (*Heterotrigona itama*), yang berarti ekstrak tersebut berpengaruh terhadap pembentukan *biofilm*

Pseudomonas aeruginosa. Dengan demikian, H_0 ditolak dan H_a diterima. Hasil uji Post Hoc Games-Howell (Tabel 3) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antara konsentrasi 0,09%, 0,19%, dan 0,39%. Peningkatan signifikan ($p < 0,05$) terjadi pada konsentrasi 0,78% hingga 6,25% dibandingkan konsentrasi $\leq 0,39\%$, namun tidak ada perbedaan signifikan antar konsentrasi dalam rentang 0,78%–6,25%. Selain itu, konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% menunjukkan peningkatan signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan konsentrasi $\leq 6,25\%$, dengan perbedaan signifikan juga antara konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%. Keterbatasan penelitian ini belum ditemukan M_{bc} (*minimum biofilm inhibitory concentration*) dan perlunya penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi yang berbeda.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan efek ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) terhadap pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa* dengan ekstrak terbaik pada konsentrasi 50% memiliki persentase hambat *biofilm* tertinggi sebesar 98%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) maka semakin efektif dalam menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*. Implikasi penelitian ini adalah ekstrak madu lebah Galo-galo (*Heterotrigona itama*) dapat digunakan sebagai bahan alami yang efektif untuk menghambat pembentukan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai alternatif terapi dalam mengatasi infeksi bakteri yang resisten.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sinaga H, Runtubo DYP, Zebua LI. Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat Kesehatan Dan Udara di Ruang Unit Gawat Darurat Rsud Abepura Kota Jayapura. *J Biologi Papua*, 2018;6(2):75–7. <https://doi.org/10.31957/jbp.462>.
2. Iancu D, Moldovan I, Tilea B, Voidăzan S. Evaluating Healthcare-Associated Infections in Public Hospitals: A Cross-Sectional Study. *Antibiotics*. 2023; 12(12):1693. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121693>
3. Qin, S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, Liang H, Song X et al. *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenesis Virulence Factors Antibiotic Resistance Interaction With Host Technology Advances And Emerging Therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022;7(1): 1–27. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>.
4. Abdouchakour F, Grau D, Jumas E. Leads to Successive Waves of Contamination of Water in Dental Care. *Contamination*, 2015;81(21):7509–24. <https://doi.org/10.1128/AEM.01279-15>.
5. Caldas RR, Le Gall F, Revert K, Boisramé S. *Pseudomonas aeruginosa* and Periodontal Pathogens in the Oral Cavity and Lungs of Cystic Fibrosis Patients. *J Clin Microbiol*, 2015;53(6):1898–907. <https://doi.org/10.1128/JCM.00368-15>.
6. Lins RX, de Oliveira Andrade C, Hirata R Jr, Wilson MJ, Lewis MAO, Williams DW. Antimicrobial resistance and virulence traits of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the oral cavity of Brazilian individuals. *Braz Oral Res*. 2019;33:e047.
7. Kurtzman GM, Schwalm JD. Oral biofilms and their connection to systemic health. *Med Res Arch*. 2022;10(9). <https://doi.org/10.18103/mra.v10i9.3148>
8. Hajardhini P, Susilowati H, Yulianto HDK. Rongga Mulut Sebagai Reservoir Potensial untuk Infeksi *Pseudomonas aeruginosa*. *Odonto Dent J*, 2020;7(2):125. <https://doi.org/10.30659/odj.7.2.125-133>.
9. Sun X, Yang Z, Nie Y, Hou B. Microbial communities in the extraradicular and intraradicular infections associated with persistent apical periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022; 11: 798367. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.798367>
10. Smith S, Rowbotham NJ. Inhaled anti-pseudomonal antibiotics for long-term therapy in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022;2022 (11): CD001021.pub4. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001021.pub4>
11. Hartono SK, Haniastuti T, Susilowati H, Handajani J, Linggar Jonarta A. The effect of in vitro royal jelly provision on adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2019;5(1):1–5. <https://doi.org/10.22146/maikedgiind.30221>
12. Aka ST, Haji SH. Sub-MIC of antibiotics induced biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of chlorhexidine. *Braz J Microbiol*. 2015;46(1):149–54. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120140218>.
13. Herwina H, Ratni E, Jasmi J, Setyaka V. Pendampingan Usaha Bukik Nabu (UBUNA) dalam budidaya lebah tanpa sengat (galo-galo) dan pengembangan produk turunannya di Limau Manis, Padang. *J Warta Pengabdian Andalas*. 2021;28(4):386–92. <https://doi.org/10.25077/jwa.28.4.386-392.2021>.
14. Melia S, Julyarsi I, Kurnia YF, Aritonang SN, Pratama YE, Supandil D. Profile of stingless bee honey and microbiota produced in West Sumatra, Indonesia, by several species (Apidae, Meliponinae). *Vet World*. 2024;17(4):785–95. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.785-795>.
15. Maria M, Karim HA, Nuh M. Analisis waktu pemasakan dalam proses pembuatan permen madu *Trigona biroi* dan *Apis dorsata*. *J Penelit Kehutanan Bonita*. 2021;3(1):45. <https://doi.org/10.55285/bonita.v3i1.771>.
16. Budiman I. Peningkatan kualitas mutu madu kelulut (*Trigona* sp) menggunakan mesin ventur dan dehumidifier untuk meningkatkan ekonomi masyarakat di Desa Madurejo, Kecamatan Pengaron, Kabupaten Banjar. *Pros Semin Nas Pengabdian Kepada Masyarakat*. 2019;1(4):61–6.
17. Biluca FC, da Silva B, Caon T, Mohr ETB, Vieira GN, Gonzaga LV, Vitali L, et al. Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (Meliponinae). *Int Food Res J*. 2020; 129:108756. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108756>
18. Harjanto S, Mujiyanto M, Arbainsyah, Ramlan A. Budidaya lebah madu kelulut sebagai alternatif mata pencaharian masyarakat. *J Meliponikultur*, 2020.3-4.

19. Shirlaw O, Billah Z, Attar B, Hughes L, Qasaymeh RM, Seidel V, Efthimiou G. Antibiofilm Activity of Heather and Manuka Honeys and Antivirulence Potential of Some of Their Constituents on the DsbA1 Enzyme of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(12):911. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120911>
20. Mohammad AA, Abu Bakar M, Jafar HN, Hamid ANA, Mohd MKZ, Fatima IJ. Antibacterial and antibiofilm activities of Malaysian Trigona honey against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. *Jordan J Biol Sci*. 2020;13(1):69-76.
21. Shamsudin S, Selamat J, Shomad MA, Faris M, Aziz A, Akanda JH. Antioxidant properties and characterization of *Heterotrigona itama* honey from various botanical origins according to their polyphenol compounds. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:2893401. <https://doi.org/10.1155/2022/2893401>
22. Suhri AGM, Bahar I. Water content of stingless bee honey varies by season. *J Biol Trop*. 2023;23(2):16-22. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i2.4651>.
23. Irish J, Blair S, Carter DA. Changes in antibacterial activity, colour and hydrogen peroxide content of Western Australian Jarrah (*Eucalyptus marginata*) and Marri (*Corymbia calophylla*) honeys after storage at different temperatures over time. *J Appl Microbiol*. 2023;134(3):lxad017. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad017>.
24. Khan RA. Honey and its antimicrobial properties. *J Clin Diagnostic Res*, 2018;12(1):9-13.