

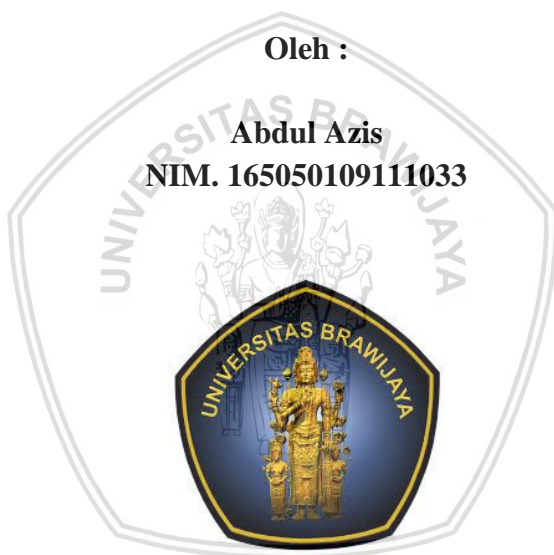
**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR TOTAL
FLAVONOID DAN KADAR TOTAL FENOLIK
PROPOLIS PADA DUA JENIS LEBAH (*Apis
mellifera* dan *Trigona sp.*) DAN LOKASI BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh :

Abdul Azis

NIM. 165050109111033



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR TOTAL
FLAVONOID DAN KADAR TOTAL FENOLIK
PROPOLIS PADA DUA JENIS LEBAH (*Apis
mellifera* dan *Trigona sp.*) DAN LOKASI BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh:

**Abdul Azis
NIM. 165050109111033**

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas
Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR TOTAL FLAVONOID DAN KADAR TOTAL FENOLIK PROPOLIS PADA DUA JENIS LEBAH (*Apis mellifera* dan *Trigona sp.*) DAN LOKASI BERBEDA

SKRIPSI

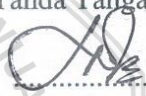

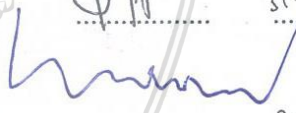

Oleh :

Abdul Azis

NIM. 165050109111033

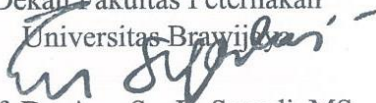
Telah dinyatakan lulus dalam ujian Sarjana

Pada Hari/Tanggal : Pada 16-05-2018

	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing Utama:		
<u>Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS.</u>		<u>31-05-2018</u>
NIP. 19590823-198609-2-001		
Pembimbing Pendamping:		
<u>Firman Jaya, S. Pt., MP.</u>		<u>31-05-2018</u>
NIP. 19820308-201012-1-001		
Dosen Penguji:		
<u>Prof. Dr. Ir. Luqman Hakim, MS.</u>		<u>31-05-2018</u>
NIP. 19501213-198002-1-002		
<u>Dr. Herly Evariantarini, S.Pt, MP.</u>		<u>31-05-2018</u>
NIP. 19750110-200801-2-003		

Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Agr. Sc. Ir. Suyadi, MS.

NIP. 19620403-198701-1-001

Tanggal :



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kota Bogor pada tanggal 9 Mei 1995 sebagai putra ke lima dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Hermansyah dan Ibu Surni Suryanita serta memiliki saudara kandung yaitu Fajar Aulia Putra, Fajar Firmansyah, Hari Nurdiansyah Tahar, dan Putri Chairani. Penulis memulai jenjang pendidikan dari Taman Kanak-kanak (TK) Kurnia Allah dan lulus pada tahun 2001, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri (SDN) Cilodong 1 sampai tahun 2007. Tahun 2007-2010 penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Cibinong. Tahun 2010 penulis melanjutkan kembali pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Citeureup dan lulus tahun 2013. Sewaktu SMA penulis pernah menjadi ketua dalam suatu organisasi yang bernama Musyawarah Perwakilan Kelas (MPK) untuk satu periode.

Tahun 2013 Penulis melanjutkan pendidikan di Program Diploma Institut Pertanian Bogor pada Program Keahlian Teknologi dan Manajemen Ternak. Tahun 2016 penulis melanjutkan kuliah di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya untuk mendapatkan gelar sarjana. Penulis telah melaksanakan dua kali Praktik Kerja Lapangan (PKL). PKL pertama dilaksanakan di UPTD BPPTU Jatiwangi Jawa Barat yang bergerak pada bidang pembibitan ayam buras dan PKL kedua dilaksanakan di PT Rumpinary Agro Industry Rumpin Jawa Barat yang bergerak di bidang Penggemukan Sapi Potong.





KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR TOTAL FLAVONOID DAN KADAR TOTAL FENOLIK PROPOLIS PADA DUA JENIS LEBAH (*Apis mellifera* dan *Trigona sp.*) DAN LOKASI BERBEDA”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar strata satu (S1) Sarjana Peternakan Universitas Brawijaya. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis juga sangat berterima kasih kepada yang terhormat:

1. Orang tua terkasih Bapak Hermansyah dan Ibu Surni Suryanita atas do'a dan dukungannya baik secara moril maupun materiil.
2. Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS. Selaku dosen pembimbing utama dan Firman Jaya, S.Pt., MP., selaku pembimbing pendamping atas saran dan bimbingannya.
3. Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., yang telah berjasa dalam memberikan kebijakan tertinggi untuk kemajuan pendidikan di Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya.
4. Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua Jurusan Peternakan dan Dr. Ir. Imam Thohari, MP., selaku sekretaris Jurusan Peternakan yang telah membantu kelancaran proses studi.
5. Dr. Agus Susilo, S.Pt., MP., selaku ketua program studi Peternakan yang telah banyak membantu kelancaran program studi.
6. Bapak Ustad, S.Pt., M.Pt dan Ibu Dewi Masyithoh, S.P., M.Pt dan keluarga selaku pemilik peternakan lebah PT Kembang Joyo Sriwijaya.

7. BOPTN 2017 Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya (*Research Group* Produk Lebah) yang telah mendanai penelitian penulis.
8. Bapak Kaliawan selaku laboran Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang yang telah membantu dalam penelitian ini.
9. Fajar Aulia Putra, Fajar Firmansyah, Hari Nurdiansyah, dan Putri Chairani selaku saudara penulis yang telah membantu baik secara moril dan materil.
10. Rofian Henis Muslimah, Linda Oktaviatus Sabtika, Annisa Sefty Maharani, Misbah Husolli, Aminatus Solekhah, Muhammad Fahmi Aziz S. dan Rizal Lesmana selaku kelompok penelitian yang telah membantu dari awal sampai akhir penelitan serta telah memberikan semangat dan saran kepada penulis.
11. Teman-teman seperjuangan SAP 2016 yang telah memberikan semangat serta bantuan kepada penulis.
12. Serta teman-teman yang telah membantu dan tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca pada umumnya dan kepada penulis khususnya. Terima kasih.

Malang, Mei 2018

Antioxidant Activity, Total Flavonoid and Total Phenolic Contents of Propolis in Two Different Species of Honey Bees (*Apis mellifera* and *Trigona sp.*) and Location

Abdul Azis¹⁾, Lilik Eka Radiati²⁾ and Firman Jaya²⁾

¹⁾ Student of Faculty of Animal Science, Brawijaya University

²⁾ Lecturer of Animal Product Technology Departement,
Faculty of Animal Science, Brawijaya University

E-mail: azis363@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of propolis in two different types of honey bees and location. The material used for this research were propolis which was produced by different honey bees, namely *Apis mellifera*, *Trigona sp* and different location from Batu and Mojokerto. The method used was descriptive analysis. The maximum and minimum of antioxidant activity were obtained by propolis *Trigona sp.* from Mojokerto (987.24 $\mu\text{g/g}$) and propolis *Trigona sp.* from Batu (166.25 $\mu\text{g/g}$). The maximum and minimum of total flavonoid content were obtained by propolis *Apis mellifera* from Mojokerto (1.990 mg/g) and propolis *Trigona sp* from Mojokerto (1.000 mg/g). The maximum and minimum of total fenolic content were obtained by propolis *Apis mellifera* from Mojokerto (21.980 mg/g) and propolis *Trigona sp* from Mojokerto (9.603 mg/g). Propolis *Apis mellifera* from Mojokerto had a higher total flavonoids and phenolic content and *Trigona sp.* from Mojokerto had lowest of antioxidant activity, total flavonoids and total phenolics.

Keywords : Antioxidant, *Apis mellifera*, flavonoid, phenolic, and *Trigona sp.*





AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR TOTAL FLAVONOID DAN KADAR TOTAL FENOLIK PROPOLIS PADA DUA JENIS LEBAH (*Apis mellifera* dan *Trigona sp.*) DAN LOKASI BERBEDA

Abdul Azis¹⁾, Lilik Eka Radiati²⁾ dan Firman Jaya²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²⁾ Dosen minat Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan,
Universitas Brawijaya

E-mail : azis363@gmail.com

RINGKASAN

Propolis merupakan suatu produk yang dihasilkan oleh lebah madu dan mengandung resin dan lilin lebah yang dikumpulkan dari sumber tanaman. Propolis dikumpulkan oleh lebah dari pucuk daun-daun yang muda untuk kemudian dicampur dengan air liurnya digunakan untuk menambal dan mensterilkan sarang. Propolis banyak digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan alami pada saat ini. Komponen yang terkandung di dalamnya merupakan senyawa bioaktif yang dapat memberikan efek positif pada tubuh. Senyawa bioaktif pada propolis kaya akan Antioksidan, flavonoid dan fenoliknya. Senyawa tersebut merupakan antioksidan yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan aktivitas antioksidan, kadar total fenolik, dan kadar total flavonoid propolis terbaik yang berasal dari dua jenis lebah madu (*Apis mellifera* dan *Trigona sp.*) dan dua lokasi yang berbeda. Kegunaan penelitian ini untuk memberikan informasi

data ilmiah mengenai kandungan senyawa bioaktif aktivitas antioksidan, kadar total flavonoid dan kadar total fenolik dari dua jenis lebah madu (*Apis mellifera* dan *Trigona*) *sp.* dan dua lokasi yang berbeda.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiko Kimia, Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya dan Laboratorium Kimia Analisis Instrumental, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang. Materi penelitian ini adalah propolis yang berasal dari Kota Batu dan Kabupaten Mojokerto yang diperoleh dari peternakan lebah madu PT. Kembang Joyo Sriwijaya. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif. Variabel yang diukur yaitu aktivitas antioksidan, kadar total fenolik dan kadar total flavonoid.

Hasil penelitian didapatkan aktivitas antioksidan IC₅₀ propolis terendah dihasilkan oleh lebah *Trigona sp* asal Batu dengan nilai rata-rata 166,25 µg/g, *Apis mellifera* asal Mojokerto 173,05 µg/g, *Apis mellifera* asal Batu 178,79 µg/g dan tertinggi yaitu *Trigona sp* asal Mojokerto dengan nilai rata-rata 987,24 µg/g. Kandungan total flavonoid tertinggi dihasilkan oleh propolis lebah *Apis Mellifera* asal Mojokerto sebesar 1,990 mg/g, *Apis mellifera* asal Batu 1,808 mg/g, *Trigona sp* asal Batu 1,789 mg/g dan terendah oleh *Trigona sp* asal Mojokerto (1,395 mg/g). Nilai kandungan fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak propolis dari lebah *Apis mellifera* asal Mojokerto dengan nilai 21,980 mg/g, *Trigona sp.* asal Batu 15,170 mg/g, *Apis mellifera* asal Batu 11,003 mg/g dan ekstrak propolis dari lebah *Trigona sp* asal Mojokerto lebih rendah yaitu 9,603 mg/g.

Propolis *Apis mellifera* asal Mojokerto memiliki kandungan total flavonoid dan total fenolik lebih tinggi dibandingkan dengan *Apis mellifera* asal Batu dan *Trigona sp.*

asal Batu dan Mojokerto, sedangkan nilai aktivitas antioksidan terbaik dimiliki oleh propolis *Trigona sp.* asal Batu. Propolis *Trigona sp.* asal Mojokerto memiliki nilai aktivitas antioksidan, total flavonoid dan total fenolik terendah.

Kata Kunci : Antioksidan, *Apis mellifera*, flavonoid, fenolik, dan *Trigona sp.*





DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xix
 BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Kegunaan Penelitian	3
1.5. Kerangka Pikir	4
1.6. Hipotesis	6
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Lebah Madu	7
2.1.1. <i>Apis mellifera</i>	7
2.1.2. <i>Trigona sp.</i>	9
2.2. Lokasi Penggembalaan	10
2.3. Propolis	11
2.4. Metode Ekstraksi	13
2.5. Fenolik	14
2.6. Flavonoid	15
2.7. Antioksidan	16

BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian 19

3.2. Materi Penelitian 19

 3.2.1. Alat dan Bahan..... 19

 a. Ekstraksi Propolis 19

 b. Aktivitas Antioksidan..... 20

 c. Total Flavonoid 20

 d. Total Fenolik..... 20

3.3. Metode Penelitian 20

3.4. Tahapan Penelitian 21

 3.4.1. Pengambilan Sampel Propolis 21

 3.4.2. Ekstraksi Propolis 22

3.5. Variabel Penelitian 23

3.6. Batasan Istilah 24

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Aktivitas Antioksidan IC₅₀ 25

4.2. Flavonoid 27

4.3. Fenolik..... 29

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan 31

5.2. Saran 31

DAFTAR PUSTAKA 33

LAMPIRAN 41



DAFTAR TABEL

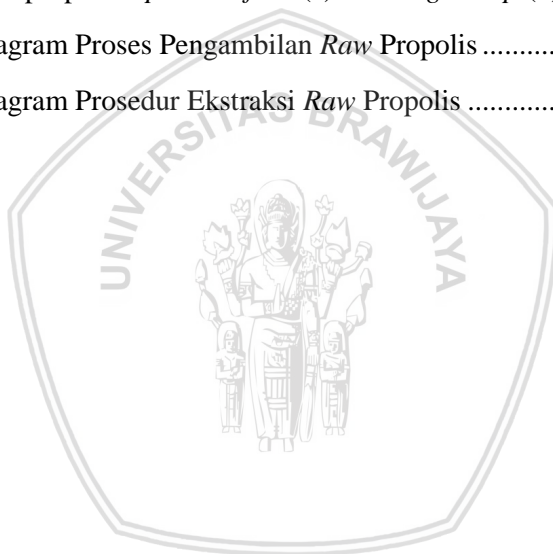
Tabel	Halaman
1. Nilai rataan aktivitas antioksidan IC ₅₀ propolis.....	25
2. Nilai rataan flavonoid propolis.....	27
3. Nilai rataan fenolik propolis.....	29





DAFTAR GAMBAR

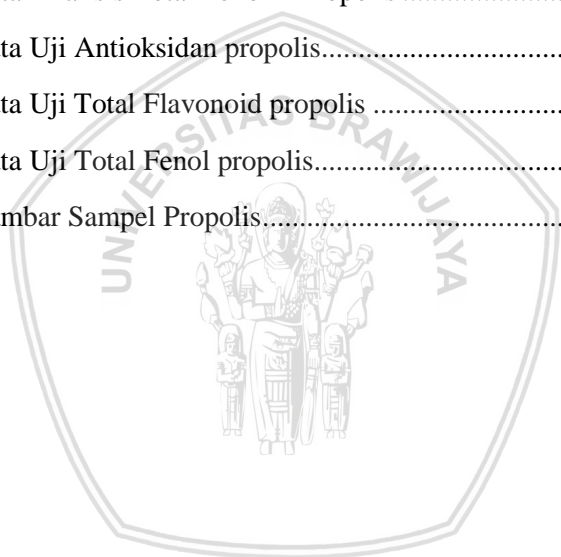
Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir	5
2. <i>Apis mellifera</i>	8
3. <i>Trigona sp</i>	10
4. Raw propolis <i>Apis mellifera</i> (a) dan <i>Trigona sp</i> (b).....	11
5. Diagram Proses Pengambilan Raw Propolis	21
6. Diagram Prosedur Ekstraksi Raw Propolis	22





DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Ekstraksi <i>Raw</i> Propolis	41
2. Aktivitas Peredaman Radikal Bebas (DPPH) Propolis	41
3. Data Analisis Total Flavonoid Propolis	48
4. Data Analisis Total Fenolik Propolis	51
5. Data Uji Antioksidan propolis.....	54
6. Data Uji Total Flavonoid propolis	54
7. Data Uji Total Fenol propolis.....	54
8. Gambar Sampel Propolis.....	55





DAFTAR SINGKATAN

AlCl_3	: Aluminium clorida
dkk	: dan kawan-kawan
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
et al.	: et alii; et alia
g	: Gram
GA	: Galic acid
GAE	: <i>Galic Acid Equivalent</i>
IC_{50}	: <i>Inhibition Correlation 50</i>
Kg	: Kilogram
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
mm	: Milimeter
NaOH	: Natrium Hidroksida
NaNO_2	: Natrium nitrit
QE	: <i>Quersetin Equivalent</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
SD	: Standar deviasi
sp.	: Spesies
UV-Vis	: Ultra violet Visible
%	: Persentase
$^{\circ}\text{C}$: Derajat celcius
Na_2CO_3	: Natrium Karbonat

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Lebah madu merupakan salah satu komoditi peternakan yang banyak diminati di Indonesia. Lebah madu adalah hewan yang menghasilkan berbagai macam produk yang bermanfaat untuk kesehatan manusia. Jenis lebah madu yang digunakan seperti *Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Apis dorsata* dan *Trigona sp.* *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* merupakan dua jenis lebah yang banyak ditenakan karena mudah dalam sistem penggembalaannya dan tergolong tidak agresif. Lebah madu jenis *Apis mellifera* memiliki keunggulan pada jumlah produksi madu yang tinggi dan tidak agresif atau lebih jinak. Lebah *Trigona sp* merupakan lebah tidak bersengat dan memiliki keunggulan rasa madu yang khas lebih asam, harga madu yang lebih tinggi dan banyak ditenakan secara tradisional. Jenis lebah tersebut dimanfaatkan untuk memberikan keuntungan bagi peternak.

Produk yang dihasilkan lebah berupa madu, polen, bee bread, royal jeli, propolis dan lilin lebah. Produk-produk tersebut memberikan keuntungan secara ekonomis untuk peternak dan kesehatan untuk konsumen. Hasil dari produk lebah banyak dikonsumsi untuk menjaga kesehatan manusia. Salah satu produk yang banyak dijual selain madu, memiliki khasiat yang baik untuk tubuh dan harga yang tinggi adalah propolis.

Propolis merupakan suatu produk yang dihasilkan oleh lebah madu dan mengandung resin dan lilin lebah yang dikumpulkan dari sumber tanaman. Propolis dikumpulkan oleh lebah dari pucuk daun-daun yang muda untuk kemudian

dicampur dengan air liurnya digunakan untuk menambal dan mensterilkan sarang. Kandungan dari propolis merupakan senyawa alami yang dikoleksi oleh lebah madu yang berasal dari kuncup dan eksudat tanaman dan pepohonan (Segueni, Zellagui, Moussaoui, Lahouel, and Rhouat, 2011). Propolis banyak digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan alami pada saat ini. Komponen yang terkandung di dalamnya merupakan senyawa bioaktif yang dapat memberikan efek positif pada tubuh. Harga propolis yang cukup tinggi dan memiliki khasiat yang baik untuk manusia menjadikannya salah satu produk yang memberikan keuntungan untuk peternak.

Senyawa bioaktif pada propolis kaya akan flavonoid dan fenoliknya (Segueni *et al.*, 2011). Senyawa tersebut merupakan antioksidan yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas. Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid propolis tergantung dari letak geografis dan jenis lebah tersebut (Chan, Cheung, and Sze, 2013). Perbedaan karakteristik dan jenis lebah akan mempengaruhi produk yang dihasilkan. Kemampuan lebah terbang dalam mencari makan akan mempengaruhi kualitas dari propolis. Kandungan yang terdapat pada propolis akan beragam karena lebah akan mengambil resin yang terdapat dipohon sekitar wilayah penggembalaan.

Lokasi akan menentukan kandungan senyawa bioaktif karena tumbuhan yang berada di setiap lokasi akan berbeda. Letak geografis yang berbeda pada suatu wilayah akan mempengaruhi jenis tanaman yang tumbuh di lingkungan tersebut. Jenis tanaman dapat mempengaruhi kandungan bioaktif dari propolis. Komposisi kimia propolis sangat kompleks dan tergantung dari vegetasi lingkungan tempat pengumpulannya sehingga kandungan senyawa bioaktif propolis yang ada di Indonesia dapat berbeda-beda dan berbeda

juga dengan propolis yang ada di negara-negara Eropa, Amerika dan lainnya.

Propolis yang ada saat ini masih belum memiliki standar nasional maupun internasional mengenai kandungan yang dimiliki propolis, sehingga diperlukan suatu informasi mengenai kandungan propolis. Informasi tersebut dapat digunakan sebagai pembandingan ataupun data pendukung. Sehubungan uraian di atas, maka penelitian mengenai perbedaan kandungan senyawa bioaktif propolis yang berasal dari dua jenis lebah madu yaitu *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* serta lokasi yang berbeda perlu dilakukan.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana aktivitas antioksidan, kadar total flavonoid dan kadar total fenolik pada propolis yang berasal dari dua jenis lebah (*Apis mellifera* dan *Trigona sp.*) dan lokasi yang berbeda.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk membandingkan aktivitas antioksidan, kadar total flavonoid dan kadar total fenolik propolis terbaik yang berasal dari dua jenis lebah madu (*Apis mellifera* dan *Trigona sp.*) dan dua lokasi yang berbeda.

1.4. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini untuk memberikan informasi data ilmiah mengenai aktivitas antioksidan, kadar total flavonoid dan kadar total fenolik propolis dari dua jenis lebah madu *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* dan dua lokasi yang berbeda.

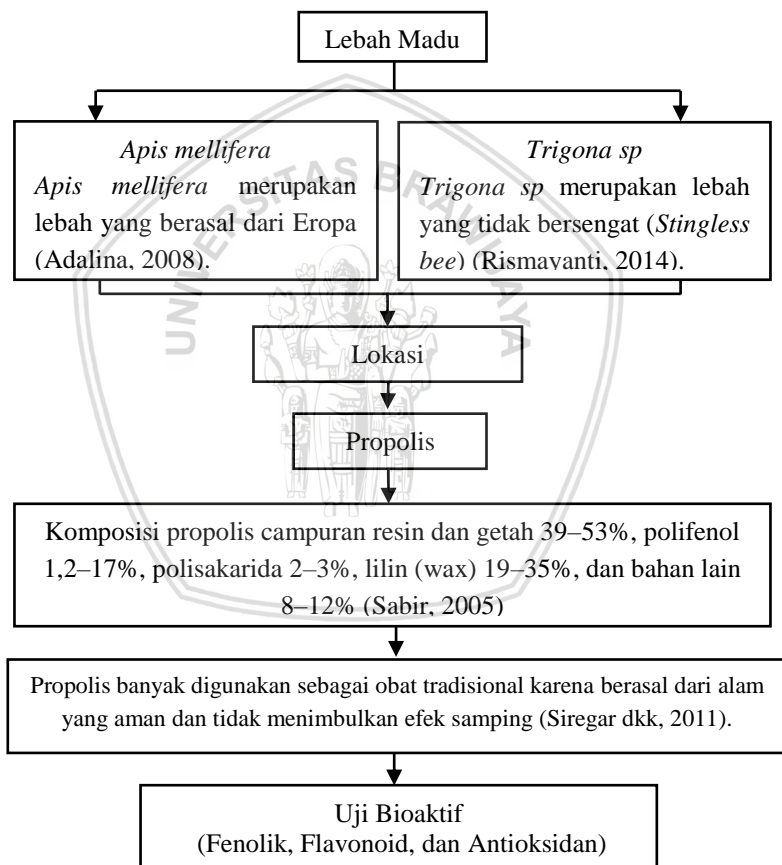
1.5. Kerangka Pikir

Lebah madu merupakan serangga yang dimanfaatkan banyak orang dengan cara ditenakan untuk diambil madunya. Lebah madu yang banyak ditenakan di Indonesia adalah jenis lebah *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* Salah satu produk yang banyak ditemui dan digunakan sebagai obat alternatif adalah propolis. Propolis banyak digunakan sebagai obat tradisional karena berasal dari alam yang aman dan tidak menimbulkan efek samping (Siregar, Fuah, dan Octavianty, 2011). Propolis yang berasal dari wilayah berbeda memiliki komposisi kimia berbeda tergantung dari tanaman yang berada di lokasi pengumpulan (Trusheva, Popova, Bankova, Simova, Marcucci, Miorin, Pasin and Tsvetkova, 2006).

Propolis merupakan senyawa resin yang dikumpulkan dari jenis tanaman tertentu dan digunakan sebagai perekat atau segel pengaman sarangnya (Suranto, 2010). Komposisi propolis sangat bervariasi dan erat hubungannya dengan jenis dan umur tumbuhan dimana propolis tersebut berasal dan umumnya propolis terdiri dari campuran resin dan getah 39–53%, polifenol 1,2–17%, polisakarida 2–3%, lilin (wax) 19–35%, dan bahan lain 8–12% (Sabir, 2005). Senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid dan antioksidan yang terkandung di dalam propolis memiliki manfaat sebagai antioksidan alami. Propolis *Trigona sp.* memiliki kandungan senyawa fenolik 104-498 $\mu\text{g/g}$ dan flavonoid 0,405-129,265 $\mu\text{g/g}$ (Hariyanto, 2017), Sedangkan kandungan antioksidan IC_{50} 68,93-4162, 61 $\mu\text{g/g}$ (Hasan, Mangunwidjaja, Sunarti, Suparno dan Setyo, 2014). Kandungan senyawa fenolik pada propolis *Apis mellifera* yaitu sebesar 0,379 $\mu\text{g/g}$, dan kandungan flavonoidnya sebesar 0,913 $\mu\text{g/g}$ (Nugraheni, 2016. Di dalam Haryanto, 2017). Propolis

asal Malang memiliki kandungan antioksidan lebih dari 500 µg/g (Juspawiza, 2013)

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan bioaktif seperti fenolik, flavonoid, dan antioksidan propolis yang dihasilkan dari *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* Kerangka pikir dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Kerangka Pikir



1.6. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah kandungan senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid dan antioksidan propolis *Trigona sp* lebih baik atau lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan propolis *Apis mellifera*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lebah Madu

Lebah madu adalah serangga penghasil madu dan serangga yang bersifat sosial. Sebagai serangga sosial, lebah madu hidup berkoloni. Setiap koloni memiliki satu lebah ratu, lebah jantan dan lebah pekerja. Masing-masing lebah memiliki tugasnya masing-masing. Lebah ratu bertugas sebagai penghasil telur untuk menghasilkan lebah-lebah baru dan sebagai penguasa sarang. Ukuran lebah ratu dua kali dan panjangnya 2,8 kali lebah pekerja. Lebah jantan bertugas untuk mengawini lebah ratu. Lebah jantan memiliki mata dan sayap yang lebih besar dari lebah ratu dan lebah pekerja. Lebah pekerja adalah lebah betina yang organ reproduksinya tidak sempurna. Lebah pekerja memiliki tugas menyediakan royal jeli, mencari madu, merawat sarang dan mengatur segala sesuatu di dalam sarang (Sihombing, 2015).

Jenis lebah yang banyak ditanam di Indonesia yaitu *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* Kedua jenis lebah tersebut memiliki keunggulan masing-masing. *Apis mellifera* memiliki keunggulan jumlah produksi yang tinggi dan tidak agresif, sedangkan *Trigona sp.* adalah lebah yang tidak memiliki sengat dan harga jual madunya yang tinggi.

2.1.1. *Apis mellifera*

Lebah madu *Apis mellifera* merupakan lebah yang berasal dari Eropa. *Apis Mellifera* bukanlah lebah asli Indonesia, melainkan berasal dari Eropa yang didatangkan pertama kali ke Indonesia pada tahun 1972 oleh para pramuka dari Australia (Adalina, 2008). *Apis Mellifera* termasuk lebah unggulan dari

Australia dan memiliki nama lengkapnya *Apis Mellifera Var Ingustica* sehingga disebut juga dengan lebah Italia (Jaya, 2016). *Apis mellifera* banyak dibudidayakan karena memiliki produksi madu yang tinggi dan daya adaptasi yang tinggi (Sihombing, 2015). Satu koloni lebah madu *Apis Mellifera* mampu memproduksi madu 25 – 40 kg dalam satu tahun sehingga banyak peternak lebah yang menggunakan lebah tersebut. Klasifikasi lebah madu *Apis mellifera* menurut Widiasari (2006) adalah:

Phyllum	: Arthropoda
Sub Phyllum	: Uniramia
Class	: Insecta
Ordo	: Hymenoptera
Sub Ordo	: Apocrita
Family	: Apidae
Sub Family	: Apinae
Genus	: Apis
Species	: Apis mellifera

Gambar lebah madu *Apis mellifera* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1 *Apis mellifera*
Sumber : Ilyasov and Neal (2015)

2.1.2. *Trigona sp.*

Trigona sp. atau lebah kelenceng merupakan jenis lebah madu yang banyak diternakan di Indonesia dengan cara tradisional. Lebah *Trigona sp* merupakan lebah yang tidak bersengat (*stingless bee*). *Trigona sp* menggunakan gigitan sebagai pertahanannya terhadap musuh yang datang. Lebah *Trigona sp* memiliki sebutan berbeda di setiap daerah seperti di Jawa disebut dengan lebah kelenceng. Lebah kelenceng tidak ganas dan tidak memiliki sengat. *Trigona sp.* dapat ditemukan di beberapa daerah tropis seperti Australia, Afrika, dan Asia Tenggara. *Trigona sp.* bersarang di lubang pohon atau celah karang dan terkadang ada yang di celah – celah rumah. Produksi madu dalam *Trigona sp* setahun hanya mencapai 1 kg. Produksi yang sedikit dan rasa yang khas menjadikan madu yang diproduksi lebah tersebut menjadi mahal. Harga madu yang dihasilkan *Trigona sp* dapat 20 kali lebih mahal dari madu yang dihasilkan lebah lainnya (Kumar, Singh and Alagumuthu, 2012). Klasifikasi lebah *Trigona sp.* menurut Sihombing (2005):

Divisi	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Hymenoptera
Subordo	: Apocrita
Famili	: Apidae
Subfamili	: Apinae
Tribe	: Meliponini
Genus	: <i>Trigona</i>
Species	: <i>T. carbonaria</i> , <i>T. hockingsii</i> , <i>T. iridipennis</i> , <i>T. spinipes</i>

Gambar lebah madu *Trigona sp* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2 *Trigona sp*

Sumber: (Putra, Watiniasih dan Suartini, 2014)

2.2. Lokasi Penggembalaan

Lokasi penggembalaan merupakan salah satu faktor yang harus diperhatikan oleh peternak. Setiap lokasi untuk penggembalaan mempengaruhi jenis madu apa yang akan diperoleh. Kandungan kimia yang tersimpan di dalam produk lebah selain madu akan berbeda, salah satu contohnya adalah propolis. Kandungan bioaktif propolis sangat dipengaruhi oleh tanaman yang tumbuh disekitar lokasi penggembalan. Tanaman yang tumbuh akan beragam sesuai dengan letak geografisnya.

Kota Batu memiliki lokasi yang berada di ketinggian 700-1700 mdpl. Suhu di kota Batu yaitu 21,5°C dengan suhu terendah 14,9°C dan tertinggi 27,2°C (Muzha, Ribawanto dan Hadi, 2013). Kota tersebut memiliki udara yang sejuk dikarenakan berada di wilayah lereng pegunungan sehingga banyak pohon pinus yang tumbuh. Berbeda dengan Kabupaten Mojokerto yang memiliki ketinggian 15-600 mdpl. Sebagian besar wilayah kabupaten Mojokerto memiliki ketinggian kurang dari 500 mdpl dengan suhu 25-31°C sehingga tanaman yang tumbuh di wilayah tersebut berbeda dengan yang ada di kota Batu.

2.3. Propolis

Propolis merupakan suatu zat resin yang dikumpulkan oleh lebah dari sumber tumbuhan seperti aliran getah atau tunas pohon. Resin yang dikumpulkan oleh lebah dicampur dengan cairan saliva atau liur lebah dan bahan lilin maka jadilah propolis (Junus, 2017). Propolis digunakan oleh lebah untuk menutup celah-celah sarang, mempernis permukaan yang kasar, mencegah parasit dan bakteri masuk ke dalam sarang. Warna yang dimiliki dari propolis adalah kuning sampai coklat gelap. Propolis dapat ditemukan pada bagian pintu masuk sarang dan pada tepian sarang dan sisiran. *Raw* propolis yang dimiliki lebah *Trigona sp* berbeda dengan *Apis mellifera*. *Raw* Propolis *Trigona sp* merupakan sarang yang sudah diambil madunya. Propolis tercampur dalam seluruh bagian sarang dan juga banyak terdapat disekeliling pintu kayu sebagai pertahanan koloni. Gambar lokasi *Raw* propolis dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3 *Raw* propolis *Apis mellifera* (a) dan *Trigona sp* (b)
Sumber : Simone-Finstrom and Spivak (2010) dan
Djajasaputra (2010)

Propolis sudah lama digunakan oleh manusia sejak zaman Aristoteles (322-384 SM) sebagai perekat pada plester untuk menutup luka (Siregar dkk., 2011). Propolis diketahui mempunyai khasiat aktivitas antibakteri, antifungi, antivirus dan anti aktivitas biologi lain seperti antiinflamasi, anestesi lokal, hepatoprotektif, antitumor, dan imunostimulasi (Bankova, Castro, And Marcucci, 2000). Jumlah senyawa di dalam propolis menunjukkan bermacam efek biologis serta aktifitas farmakologi. Propolis memiliki kandungan yang baik untuk kesehatan sehingga digunakan sebagai obat alternatif dalam bidang kesehatan. Unsur aktif yang penting dalam aktivitas biologis dan farmakologis adalah flavonoid dan senyawa fenolik serta senyawa aromatik. Komposisi senyawa kimia dari propolis yang telah berhasil diidentifikasi diantaranya adalah senyawa-senyawa asam fenolik, asam amino, flavonoid, kalkan, lignan, triterpen, steroid, dan gula. Propolis mengandung vitamin B1, B2, B6, C, dan E, serta beberapa mineral seperti seng, tembaga, kalsium, perak, aluminium, sesium, silikon, lantanum dan merkuri (Marcucci, 1995).

Komposisi yang dimiliki propolis beraneka ragam tergantung dari asal tanaman, karakteristik geografis dan iklim dari lokasi pengumpulan (Jaya, 2017). Pada umumnya kandungan propolis terdiri dari campuran resin dan getah 39–53%, polifenol 1,2–17%, polisakarida 2–3%, lilin (wax) 19–35%, dan bahan lain 8–12% (Sabir, 2005). Propolis dapat berupa bentuk padat maupun cairan. Suhu lingkungan sangat mempengaruhi tekstur dari propolis. Pada suhu dibawah 15°C propolis akan keras dan rapuh, tetapi akan kembali lengket pada 24-45°C. Propolis dapat meleleh pada suhu 60-69°C (Krell, 1996).

2.4. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari suatu padatan ataupun cairan. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu ukuran partikel yang akan diekstrak, temperatur dan jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan bahan untuk pelarut sangat penting jika hasil produk akhir digunakan untuk konsumsi manusia (Krell, 1996). Etanol merupakan salah satu jenis pelarut yang banyak digunakan dan aman untuk melarutkan suatu senyawa dari padatan. Etanol disebut juga etil alkohol sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol merupakan hasil produk fermentasi yang dibuat dari substrat karbohidrat termasuk selulosa yang terdapat pada semua minuman beralkohol (Jaya, 2017).

Ekstraksi memiliki beberapa metode, salah satunya metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya (Shadiqy, 2012). Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana, sedangkan kerugiannya waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti ben'oin, tiraks dan lilin.

2.5. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang ditemukan pada tumbuhan. Fenolik memiliki cincin aromatik satu atau lebih gugus hidroksi (OH) dan gugus – gugus lain penyertanya. Fenolik memiliki struktur komponen yang berbeda-beda sehingga terdapat fenolik yang memiliki gugus OH dalam jumlah yang sedikit dan banyak. Gugus OH berperan sebagai transfer elektron yang digunakan untuk menstabilkan radikal bebas. Senyawa fenolik di alam terdapat sangat luas, mempunyai variasi struktur yang luas, mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Ribuan senyawa fenolik alam telah diketahui strukturnya, antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tannin), dan kuinon fenolik. Fenolik adalah senyawa metabolit sekunder yang tersebar luas pada tanaman (Gülçin, Bursal, Sehitoglu, Bilsel, and Gören, 2010). Senyawa fenolik tersebut memiliki kemampuan untuk mendonasikan atom hidrogen, maka aktivitas antioksidan senyawa fenolik dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas yang mengawali proses oksidasi atau pada penghentian reaksi radikal berantai yang terjadi (Alhabsy, Suryanto dan Wewengkang, 2014).

Pengujian kandungan fenolik menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Penggunaan reagen ini didasarkan pada reduksi asal Folin-Ciocalteu di dalam larutan alkali dan bereaksi sehingga berubah warna biru (Wijayanti, 2016). Absorbansi yang terbentuk sebab fosfotungstat biru sebanding dengan jumlah senyawa fenolik di dalam sampel, sehingga dapat diketahui berapa jumlah kandungan senyawa fenolik dalam suatu sampel yang dinyatakan dengan ekuivalen asam galat (Cindric, Kunštić, Zeiner, Stingeder and Rusakc, 2011). Penggunaan

spektrofotometer UV/Vis untuk mengukur panjang gelombang cahaya yang dihasilkan.

2.6. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol alam dan suatu golongan metabolit sekunder yang tersebar merata di dalam tumbuhan. Flavonoid tersebar pada seluruh bagian tanaman seperti pada daun, buah, biji, akar, kayu, kulit kayu, batang dan getah batang. Flavonoid mempunyai kerangka dasar yang terdiri dari 15 atom C, 2 cincin benzene (C₆) terikat pada suatu rantai propan (C₃) yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga, sehingga membentuk suatu konfigurasi C₆-C₃-C₆ (Zaini, 2006).). Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa alami yang paling beragam dan fenol alami yang paling penting (Khatiwora, Adsul, Kulkarni, Deshpande and Kashalkar, 2010).

Flavonoid adalah sejenis fitokimia yang memiliki kegunaan sebagai antibiotik alami yang mampu mencegah pertumbuhan bakteri. Kandungan flavonoid tidak hanya terdapat pada sayuran ataupun buah, tetapi ada juga pada propolis. Hasil akhir ekstraksi propolis kaya akan kandungan fenol yang salah satu turunannya adalah flavonoid (Jug, Koncic and I. Kosalec, 2014). Senyawa flavonoid pada propolis berhubungan dengan warna sarang lebah. Propolis yang memiliki warna lebih gelap memiliki kandungan flavonoid yang lebih banyak (Hasan, Mangunwidjaja, Sunarti, Suparno dan Setyo, 2013). Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV/Vis. Spektrum khas flavonoid terdiri atas dua maksimal pada rentang 230-295 nm (pita II) dan 300-560 nm (pita I) (Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi, 2013). Data spektrum UV-tampak dapat digunakan

untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi.

2.7. Antioksidan

Senyawa antioksidan jika diartikan secara kimia adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor), sedangkan pengertian antioksidan secara biologis adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam jumlah tertentu mampu menghambat atau kerusakan akibat proses oksidasi (Sayuti, 2015). Antioksidan sudah ada secara alami di dalam bahan pangan dan memiliki fungsi sebagai pelindung dari kerusakan akibat reaksi oksidasi lemak atau minyak.

Antioksidan merupakan suatu molekul yang dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi dari molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel. Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul yang kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsih, 2007).

Analisa antioksidan yang digunakan adalah metode DPPH. Metode DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazil) adalah salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada

panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Sayuti, 2015). Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah *Inhibition Contentration* (IC_{50}). IC_{50} adalah konsentrasi zat antioksidan yang menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal, sehingga semakin rendah nilai IC_{50} semakin baik (Shadiqy, 2012).





BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel propolis dilakukan di peternakan lebah madu PT. Kembang Joyo Sriwijaya dengan lokasi penggembalaan di Kota Batu dan Mojokerto. Penelitian ini dimulai pada bulan Oktober sampai dengan bulan Desember 2017 dan dilaksanakan:

1. Divisi Fisiko-kimia dan Organoleptik, Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya.
2. Laboratorium Kimia Analisis Instrumental, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang.

3.2. Materi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *raw* propolis yang berasal dari dua jenis lebah yang berbeda yaitu *Apis mellifera* dan *Trigona sp.* dan lokasi penggembalaan yang berbeda yaitu Batu dan Mojokerto. Sampel *raw propolis* didapatkan dari PT. Kembang Joyo Sriwijaya. *Raw* propolis diekstrak terlebih dahulu dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi kemudian diuji kandungan bioaktifnya yaitu aktivitas antioksidan IC₅₀, kadar total Flavonoid, dan kadar total fenolik.

3.2.1. Alat dan Bahan

a. Ekstraksi Propolis

Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi propolis adalah timbangan analitik, *beaker glass*, pengaduk kaca, kertas saring. Bahan yang digunakan *raw* propolis dan etanol 70% (Krell, 1996).

b. Aktivitas Antioksidan

Peralatan yang digunakan untuk uji Antioksidan IC₅₀ adalah Inkubator dan spektrofotometer. Bahan yang digunakan adalah metanol dan larutan dpph (Sayuti, 2015).

c. Total Flavonoid

Peralatan yang digunakan untuk uji total flavonoid adalah timbangan analitik, gelas ukur 5 ml, kertas saring *whatman*, pipet tetes, inkubator, spektrofotometer UV-VIS. Bahan yang digunakan adalah ekstrak propolis, metanol, AlCl₃ (Oses, Pascual-Maté, Fernández-Muiño, López-Díaz, and Sancho. 2016).

d. Total Fenolik

Peralatan yang digunakan untuk uji total fenolik adalah timbangan analitik, kertas saring *whatman*, gelas ukur 100ml, *beaker glass*, inkubator, spektrofotometer UV-VIS. Bahan yang digunakan ekstrak propolis, Etanol 90%, Folin-Ciocalteu, aquades, Na₂CO₃ (Oses, *et al.* 2016).

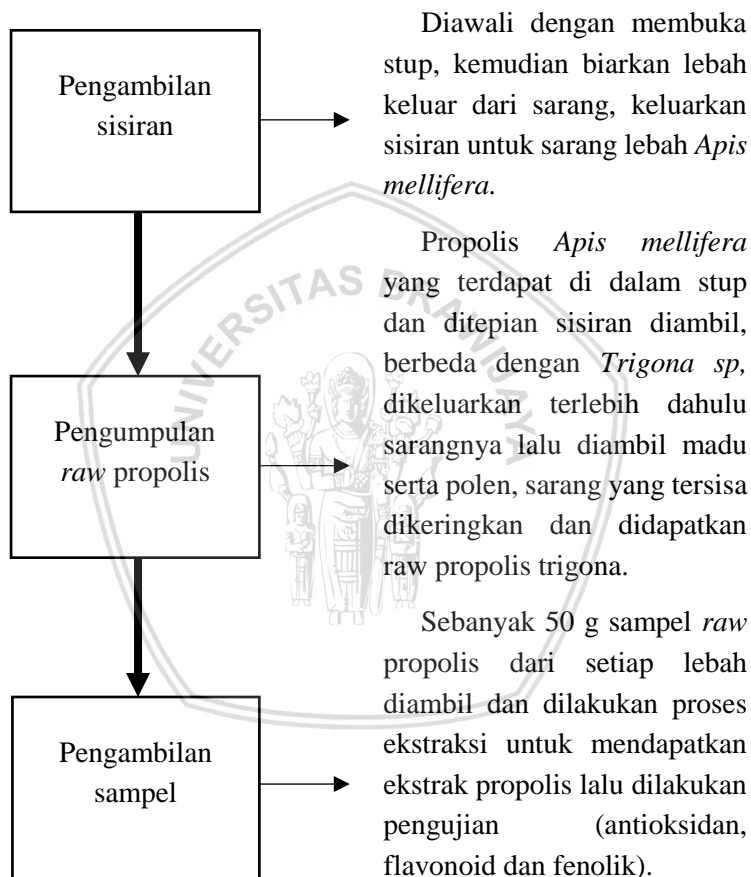
3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Data yang diperoleh merupakan data primer yang didapatkan langsung dari hasil laboratorium. Sampel propolis diambil berdasarkan jenis lebah dan lokasi penggembalaannya. Hasil dari data primer ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan dan menjelaskan bagaimana hasil penelitian tersebut.

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel Propolis

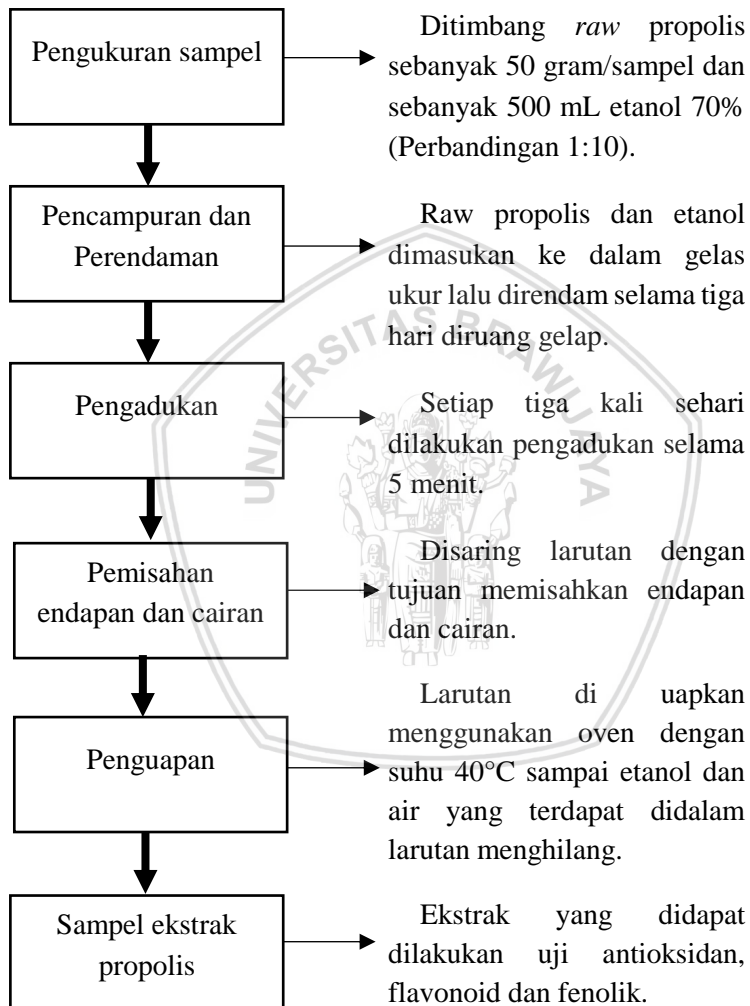
Proses pengambilan raw propolis dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 1 Diagram Proses Pengambilan Raw Propolis

3.4.2. Ekstraksi Propolis

Proses ekstraksi *raw* propolis dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 2 Diagram Prosedur Ekstraksi *Raw* Propolis

3.5. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian yaitu kandungan antioksidan IC₅₀ fenolik, flavonoid. Analisis ekstrak propolis yaitu:

1. Antioksidan IC₅₀

Kadar Antioksidan diketahui dengan menggunakan DPPH. Absorbansi larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Warna DPPH akan berubah dari berwarna ungu hingga menjadi kuning seiring dengan penambahan antioksidan. Prosedur pengujian dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Uji Flavonoid

Total flavonoid diukur dengan kuarsetin equivalen. Larutan dibaca pada 415 nm pada spektrofotometer. Kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang dapat dideteksi dengan pereaksi AlCl₃, reaksi tersebut akan membentuk ikatan kompleks dengan gugus hidroksil dari senyawa flavonoid. Hasil absorbansi diekspresikan hasilnya sebagai sampel mg quercetin (QE)/g. Prosedur pengujian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3. Uji Fenolik

Total Fenolik ditentukan berdasarkan metode Folin-Ciocalteu dan dinyatakan dalam mg *Gallic Acid Equivalent* (Ekuivalen Asam Galat). Folin-Ciocalteu merupakan reagen yang dapat membentuk larutan kompleks dengan fenol yang terkandung. Larutan dibaca 725 nm pada spektrofotometri. Hasil akhir akan diekspresikan dengan mg (GAE) /g. Prosedur pengujian dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.6. Batasan Istilah

- Propolis : Suatu zat resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari sumber tumbuhan seperti aliran getah atau tunas pohon.
- DPPH : Radikal bebas yang bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen.
- Radikal Bebas : Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif yang secara umum senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan.
- Ekstraksi : Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel propolis didapatkan dari peternakan lebah CV. Kembang Joyo yang dihasilkan dari dua jenis lebah yang berbeda yaitu *Apis Mellifera* dan *Trigona sp.* Hal ini dilakukan dengan tujuan penelitian untuk mengetahui kandungan bioaktif seperti flavonoid, fenolik, dan antioksidan yang terdapat pada propolis dari dua jenis lebah *Apis Mellifera* dan *Trigona sp.*

4.1. Aktivitas Antioksidan IC₅₀

Aktivitas antioksidan IC₅₀ merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal bebas sebanyak 50%. Hasil aktivitas antioksidan didapatkan dari persentase inhibisi yang dihitung dengan perhitungan regresi linear dan dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil penelitian mengenai pengaruh perbedaan jenis lebah dan lokasi penggembalaan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Nilai rata-rata aktivitas antioksidan IC₅₀ propolis

Jenis Lebah	Lokasi	Aktivitas Antioksidan
		IC ₅₀ (μg/g)
<i>Apis mellifera</i>	Batu	178,79 ± 1,70
	Mojokerto	173,05 ± 0,53
<i>Trigona sp</i>	Batu	166,25 ± 0,42
	Mojokerto	987,24 ± 4,03

Aktivitas antioksidan IC₅₀ propolis terendah dihasilkan oleh lebah *Trigona sp* asal Batu dengan nilai rata-rata 166,25 μg/g, *Apis mellifera* asal Mojokerto 173,05 μg/g, *Apis mellifera* asal Batu 178,79 μg/g dan tertinggi yaitu *Trigona sp* asal Mojokerto

dengan nilai rata-rata 987,24 $\mu\text{g/g}$. Hal ini menandakan bahwa untuk mengurangi radikal bebas sebesar 50% maka dibutuhkan 173,05 $\mu\text{g/g}$ untuk propolis *Apis mellifera* asal Mojokerto dan 987,24 $\mu\text{g/g}$ untuk propolis *Trigona sp* asal Mojokerto. Kandungan antioksidan yang terdapat pada propolis dipengaruhi oleh kandungan fenolik (Marghitas, Dezmirean, Margaona and Mihai, 2011). Semakin tinggi nilai kandungan fenolik maka semakin rendah nilai IC_{50} yang dimiliki. Komponen flavonoid (seperti krisin atau kuersetin) dan asam organik (seperti asam firulat atau asam kafeat) merupakan senyawa aktif yang dapat bersifat antioksidan, yang ditunjukkan oleh adanya kemampuan mereduksi radikal bebas DPPH (Hasan dkk. 2013). Kapasitas antioksidan suatu bahan dipengaruhi oleh komponen-komponen di dalam bahan tersebut yang mampu beraktivitas untuk menghambat terjadinya oksidasi (Ariviani dan Parnanto, 2013). Nilai yang lebih rendah menandakan bahwa Propolis *Apis mellifera* memiliki kandungan antioksidan yang terbaik.

Kandungan antioksidan yang dihasilkan dari kedua jenis lebah tersebut tergolong lemah. Menurut Junita, Setiawan, Anwar dan Muhandri (2017), menyatakan bahwa suatu zat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan lemah jika nilai IC_{50} dari senyawa tersebut lebih dari 150 $\mu\text{g/ml}$ atau setara dengan 150 ppm. Marghitas dkk. (2011), di dalam penelitiannya mendapatkan nilai IC_{50} terendah sebesar 440 $\mu\text{g/g}$. Wang, Sankarapandian, Cheng, Woo, Kwon, Perumalsamy and Ahn (2016) mendapatkan hasil antioksidan sebesar 25,7-476,5 $\mu\text{g/g}$ yang didapatkan dari 20 tempat berbeda di Korea Selatan. Laskar, Ismail, Roy and Begum (2010) di dalam penelitiannya mendapatkan kandungan antioksidan IC_{50} yang berasal dari India memiliki nilai sebesar 70 $\mu\text{g/g}$. Kandungan dari

antioksidan tersebut memiliki perbedaan yang disebabkan karena perbedaan geografis atau asal lebah dan waktu dalam pemanenannya. Aktivitas antioksidan tersebut dipengaruhi oleh nilai flavonoid yang terkandung didalam propolis. Flavonoid adalah salah satu komponen senyawa fenolik yang merupakan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Tumbuhan yang hidup di lokasi penggembalaan akan mempengaruhi kandungan flavonoid yang merupakan antioksidan alami di dalam propolis.

4.2. Flavonoid

Hasil penelitian mengenai pengaruh perbedaan jenis lebah dan lokasi penggembalaan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Nilai rata-rata flavonoid propolis

Jenis Lebah	Lokasi	Flavonoid (mg/g)
<i>Apis mellifera</i>	Batu	1,808 ± 0,086
	Mojokerto	1,990 ± 0,038
<i>Trigona sp</i>	Batu	1,789 ± 0,053
	Mojokerto	1,000 ± 0,033

Kandungan total flavonoid tertinggi dihasilkan oleh propolis lebah *Apis Mellifera* asal Mojokerto sebesar 1,990 mg/g, *Apis mellifera* asal Batu 1,808 mg/g, *Trigona sp* asal Batu 1,789 mg/g dan terendah oleh *Trigona sp* asal Mojokerto (1,395 mg/g). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan jenis lebah mempengaruhi kandungan flavonoid dari propolis. Kandungan senyawa flavonoid yang dihasilkan dari kedua jenis lebah tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan Haryanto (2017), pada penelitiannya didapatkan 1,831 µg/g untuk propolis lebah *Apis mellifera* dan 0,129 mg/g propolis lebah *Trigona sp*. Hasan *et al.* (2014), melakukan

penelitian terhadap lima sampel propolis yang didapatkan dari lima lokasi berbeda di Indonesia dengan hasil 0,024-0,046 mg/g. Senyawa flavonoid yang terkandung di dalam propolis tersebut jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan propolis yang berasal dari negara lain. Wang *et al.* (2016) menyatakan bahwa propolis asal Cina, Korea, Australia dan Brazil memiliki nilai diatas 20,8-53 mg/g. Andradea, Denadaia, Oliveiraa, Nunes and Narain. (2017) menyatakan bahwa kandungan falvonoid propolis yang berasal dari Brazil sebesar 55-91 mg/g. Miguel, Nunes Dandlen, Cavaco and Antunes. (2010) di dalam penelitiannya mendapatkan nilai kandungan flavonoid pada musim yang berbeda yaitu pada musim salju sebesar 1,10-1,71 mg/g dan pada musim semi sebesar 1,12-1,56 mg/g.

Kandungan flavonoid yang terdapat di dalam propolis dipengaruhi oleh asal tanaman sebagai bahan baku. Komposisi kimia propolis tergantung pada kekhususan flora lokal yang berada di lokasi pengumpulan (Jaya, 2017). Tumbuhan yang paling banyak di lokasi penggembalaan adalah pohon pinus untuk wilayah Batu dan pohon mangga untuk wilayah Mojokerto. Kedua jenis tumbuhan tersebut memiliki senyawa bioaktif seperti flavonoid. Daun dan batang pinus memiliki banyak digunakan sebagai obat-obatan karena memiliki kandungan flavonoid dan fenolik (Arel, Dira dan Setiawati., 2016). Selain pohon pinus, pohon mangga memiliki kandungan flavonoid yang tinggi. Kulit pohon mangga memiliki kandungan flavonoid yang cukup banyak (Lukmandaru, Vembrianto dan Gazidy., 2012)

Lokasi penggembalaan yang memiliki jenis tumbuhan sedikit maka akan mempengaruhi jumlah kandungan flavonoid di dalam propolis. Keterbatasan tumbuhan di wilayah penggembalaan berakibat pada sulitnya lebah dalam mencari

makanan karena jangkauan terbang lebah yang berbeda. Lokasi penggembalaan di Batu penyebaran pohon pinus cukup merata sedangkan lokasi penggembalaan di Mojokerto banyak dibatasi oleh persawahan. Keterbatasan inilah yang menyebabkan kandungan flavonoid pada propolis berbeda-beda. Selain keterbatasan tanaman disekitar penggembalaan, kemampuan terbang dari setiap lebah berbeda. Lebah *Apis mellifera* memiliki jangkauan terbang mencapai 5 km sehingga lebah mampu mencari pakan di tempat lain, sedangkan *Trigona sp.* hanya memiliki jangkauan terbang dengan radius 500 m sehingga lebah hanya intensif pada area sekitar sarang (Djajasaputra, 2010).

4.3. Fenolik

Nilai kandungan fenolik dari ekstrak propolis yang berasal dari dua jenis lebah yang berbeda mempunyai nilai yang beragam. Hasil penelitian mengenai perbedaan jenis lebah dan lokasi penggembalaan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Nilai rata-rata fenolik propolis

Jenis Lebah	Lokasi	Fenolik (mg/g)
<i>Apis mellifera</i>	Batu	11,003 ± 0,732
	Mojokerto	21,980 ± 0,547
<i>Trigona sp</i>	Batu	15,170 ± 0,159
	Mojokerto	9,603 ± 0,207

Nilai kandungan fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak propolis dari lebah *Apis mellifera* asal Mojokerto dengan nilai 21,980 mg/g, *Trigona sp.* asal Batu 15,170 mg/g, *Apis mellifera* asal Batu 11,003 mg/g dan ekstrak propolis dari lebah *Trigona sp* asal Mojokerto lebih rendah yaitu 9,603 mg/g. Hasil yang

diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Hariyanto (2017) pada ekstrak propolis dari lebah *Trigona sp* sebesar 0,104 mg/g. Ekstrak propolis lebah *Apis mellifera* diperoleh lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Nugraheni (2016) di dalam Hariyanto (2017) sebesar 0, 379 $\mu\text{g/g}$, sedangkan ekstrak propolis *Apis mellifera* yang didapatkan dalam bentuk μg yaitu 15.170,38 $\mu\text{g/g}$. Keberadaan senyawa-senyawa fenolik dapat menentukan aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam propolis (Indrawati dan Razimin, 2013). Jika dibandingkan dengan propolis yang berada di luar negeri, total fenolik yang didapatkan terbilang rendah. Jug, *et al.* (2014) di dalam penelitiannya mendapatkan nilai total fenolik yang berkisar 160-359 mg/g. Miguel *et al.* (2010) melakukan penelitian di musim yang berbeda dan didapatkan kandungan flavonoid pada musim salju sebesar 3,92-8,60 mg/g dan pada musim semi 4,57-8,79 mg/g. Andrade *et al.* (2017) mendapatkan nilai fenolik sebesar 30-59 mg/g yang didapatkan dari propolis asal Brazil. Kandungan fenolik tergantung dengan lokasi, letak geografis dan sumber tanaman (Saric, Markovic, Major, Karpan, Ursulin-Trstenjak, Hruskar and Vahcic, 2012).

Perbedaan kandungan fenolik disebabkan karena sumber tanaman yang tersedia berbeda sehingga kandungan fenolik pun beragam. Tingginya kandungan flavonoid didalam suatu tanaman akan mempengaruhi kandungan fenolik. Beragamnya jenis tanaman disebabkan oleh lokasi yang digunakan pada saat penggembalaan memiliki letak geografis berbeda. Lokasi penggembalaan di Batu didominasi oleh tanaman pinus yang merata. Pinus banyak digunakan masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional dan dikembangkan dalam berbagai sediaan farmasi seperti kapsul (Arel dkk., 2016). Penggunaan

pinus sebagai bahan baku obat karena pinus memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi. Lokasi penggembalaan di Mojokerto memanfaatkan pohon mangga sebagai sumber makanan lebah. Pohon mangga memiliki kandungan flavonoid dan fenolik yang tinggi, akan tetapi lokasi tersebut dibatasi oleh wilayah persawahan sehingga salah satu jenis lebah hanya mampu mencari makan di sekitar sarang.

Kemampuan lebah dalam mencari makanan dapat mempengaruhi kandungan fenolik dikarenakan jenis tanaman yang ditemukan terbatas oleh jarak terbang maksimal lebah. Jarak jangkauan terbang lebah *Apis mellifera* yang lebih jauh dari *Trigona sp.* memberikan keunggulan terhadap lebah tersebut dalam mencari makanan. Berbeda dengan *Trigona sp.* jarak jangkauan terbangnya yang pendek menyebabkan lebah tersebut hanya intensif mencari pakan di sekitar sarang (Djajasaputra, 2010).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Propolis *Apis mellifera* asal Mojokerto memiliki kandungan total flavonoid dan total fenolik lebih tinggi dibandingkan dengan *Apis mellifera* asal Batu dan *Trigona sp.* asal Batu dan Mojokerto, sedangkan nilai aktivitas antioksidan terbaik dimiliki oleh propolis *Trigona sp.* asal Batu. Propolis *Trigona sp.* asal Mojokerto memiliki nilai aktivitas antioksidan, total flavonoid dan total fenolik terendah.

5.2. Saran

Disarankan untuk lokasi penggembalaan lebah *Trigona sp.* harus memiliki tanaman yang merata di dalam jangkauan terbang lebah agar lebah tidak terfokus disekitaran sarang.



DAFTAR PUSTAKA

- Adalina, Y. 2008. Analisis Finansial Usaha Lebah Madu Apis Mellifera L. Jurnal Penelitian Hutan dan Konsevasi Alam. 5 (3) : 217-237.
- Alhabsy, D.F., E. Suryanto, dan D.S. Wewengkang. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Pada Ekstrak Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa Acuminata* L.). Jurnal Ilmiah Farmasi. 3(2): 107 – 114.
- Andradea, J.K.S., M. Denadaia, C.S. Oliveiraa, M.L. Nunes, and N. Narain. 2017. Evaluation of Bioactive Compounds Potential and Antioxidant Activity of Brown, Green and Red Propolis from Brazilian Northeast Region. Food Research International. 101 (1) : 129-138.
- Arel, A., Dira dan A. Setiawati. 2016. Isolasi Senyawa Utama Kulit Batang Tumbuhan Pinus Dari Ekstrak Etil Asetat. Jurnal Ilmiah Kesehatan. 12 (2) : 60-66.
- Ariviani, S. dan N.H.R. Parnanto. 2013. Kapasitas Antioksidan Buah Salak (*Salacca Edulis* Reinw) Kultivar Pondoh, Nglumut dan Bali Serta Korelasinya dengan Kadar Fenolik Total dan Vitamin C. AGRITECH. 33 (3): 324 – 333.
- Bankova, V.A., S.L.D. Castro, and M.C. Marcucci. 2000. Propolis: Recent Advances in Chemistry and Plant Origin. Apidologie. 31 (1): 3–15.
- Chan G.C.F., K.W. Cheung, and D.M.Y. Sze. 2013. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis. Clinic Rev Allerg Immunol. 44 (3) :262–273.



- Cindrić, I.J., M. Kunšić, M. Zeiner, G. Stinger, and G. Rusak. 2011. Sample Preparation Methods for the Determination of the Antioxidative Capacity of Apple Juices. *Croatia Chemica Acta*. 84 (3): 435-438.
- Gülçin, I., E. bursal, M.H. Sehitoglu, M. Bilsel, and A.C. Gören, 2010. Polyphenol Contents and Antioxidant Activity of Lyophilized Aqueous Extract of Propolis from Erzurum, Turkey. *Food Chem. Toxicol.* 48 (8) : 2227–2238.
- Hariyanto, R.A.B. 2017. Penentuan Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis Trigona Sp. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Hasan, A.E.Z., D. Mangunwidjaja, T. C. Sunarti, O. Suparno, dan A. Setyo. 2013. Optimasi Ekstraksi Propolis Menggunakan Cara Maserasi Dengan Pelarut Etanol 70% dan Pemanasan Gelombang Mikro Serta Karakterisasinya Sebagai Bahan Antikanker Payudara. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 23 (1) : 13-21.
- Hasan, A.E.Z., D. Mangunwidjaja, T. C. Sunarti, O. Suparno, dan A. Setyo. 2014. Investigating the antioxidant and anticytotoxic activities of propolis collected from five regions of Indonesia and their abilities to induce apoptosis. *Journal Food Agric.* 26 (5): 390-398.
- Ilyasov, R. A., and A. Neal. 2015. Burzyan Wild-Hive Honeybee *A. M. mellifera* in South Ural. *Bee world*. 92 (1): 7 – 11.

- Indrawati, N.L. dan Razimin, 2013. *Bawang Dayak SI Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka, Jakarta Selatan.
- Jaya, F. 2016. *Produk-Produk Lebah Madu dan Hasil Olahannya*. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Jug, M., M.Z. Koncic, and I. Kosalec. 2014. Modulation of Antioxidant, Chelating and Antimicrobial Activity of Poplar Chemo-Type Propolis by Extraction Procures. *LWT-Food Science and Technology*. 57 (2) : 530-537.
- Junita, D., B. Setiawan, F. Anwar, dan T. Muhandri. 2017. Komponen Gizi, Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Sensori Bubuk Fungsional Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) dan Tempe. *Jurnal Gizi Pangan*. 12 (2): 109-116.
- Junus, H.M., 2017. *Produksi Lebah Madu*. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Juspawiza, M., 2013. *Potensi Nanopropolis Lebah Madu Trigona Spp dan Lebah Madu Apis Mellifera Sebagai Antioksidan*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Khatiwora, E., V.B. Adsul, M.M. Kulkarni, N.R. Deshpande, and R.V. Kashalkar. 2010. Spectroscopic Determination of Total Phenol and Flavonoid Contents of *Ipomoea Carnea*. *International Journal of ChemTech Research*. 2 (3): 1698 – 1701.
- Khalil, M I., M. Moniruzzaman, L. Boukraâ, M. Benhanifia, M. A. Islam, M. N. Islam, S. A. Sulaiman, and S. H. Gan. 2012. Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molecules*. 17(9): 11199-11215.

- Krell, R. 1996. Value-Added Products from Beekeeping. Fao Agricultural Services Bulletin No. 124.
- Kumar, M.S., A.J.A.R. Singh, and G. Alagumuthu. 2012. Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procures. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 11 (2) : 342-345.
- Laskar, R.A., S.K Ismail, N. Roy, and N.A. Begum. 2010. Antioxidant Activity of Indian Propolis and Its Chemical Constituents. *Food Chemistry*. 122 (1) : 233-237.
- Lukmandaru, G., K. Vembrianto, dan A.A. Gazidy. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kayu *Mangifera indica L.*, *Mangifera foetida Lour*, dan *Mangifera odorata Griff.* *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 6 (1) :18-29
- Marcucci, M.C., 1995. Propolis: Chemical Composition, Biological Properties and Therapeutic Activity. *Apidologie* 26 (2): 83–99.
- Marghitas, L.A., D.S. Dezmirean, R. Margaona, and C.M. Mihai. 2011. Physico-Chemical Characterization and Antioxidant Activity of Transylvanian Propolis. *Economics, Management, and Financial Markets*. 6 (1): 1228–1234.
- Miguel, M.G., S. Nunes , S.A. Dandlen , A.M. Cavaco, and M.D. Antunes. 2010. Phenols and Antioxidant Activity of Hydro-Alcoholic Extracts of Propolis from Algarve, South of Portugal. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (12) : 3418-3423.

- Muzha, V.K., H. Ribawanto dan M. Hadi. 2013. Pengembangan Agrowisata dengan Pendekatan *Community Based Tourism* (Studi Pada Dinas Pariwisata Kota Batu dan Kusuma Agrowisata Batu). *Jurnal Administrasi Publik*. 1 (3) : 135-141.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar Of Physics*. 2 (1): 76-83.
- Osés, S.M., A. Pascual-Maté, M.A. Fernández-Muiño, T.M. López-Díaz, and M.T. Sancho. 2016. Bioactive Properties of Honey with Propolis. *Food Chemistry*. 196 : 1215-1223
- Parwata, I. M. O. A., K. Ratnayani dan A. Listya. 2010. Aktivitas Antiradikal Bebas serta Beta Karoten pada Madu Randu (*Ceiba petandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata* L.). *J. Kimia*. 4(1): 54-62.
- Putra, P. A. H., N. L. Watiniasih., dan N. M. Suartini. 2014. Struktur dan Produksi Lebah *Trigona spp.* Pada Sarang Berbentuk Tabung Dan Bola. *Jurnal Biologi*. 18(2): 60-64.
- Rismayanti. 2014. Ecology Service Tumbuhan Herba Untuk Lebah *Trigona sp.* Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Sabir, A. 2005. Respons Inflamasi Pada Pulpa Gigi Tikus Setelah Aplikasi Ekstrak Etanol Propolis (EEP). *Dental Journal*. 38 (2) : 77-83.

- Saric, G., K. Markovic, N. Major, M. Karpan, N. Ursulin-Trstenjak, M. Hruskar, and N. Vahcic. 2012. Changes of Antioxidant Activity and Phenolic Content in Acacia and Multifloral Honey During Storage. *Food Technol. Biotechnol.* 50(4) : 437.
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press. Padang.
- Segueni, N., A. Zellagui, F. Moussaoui, M. Lahouel, and S. Rhout. 2016. Flavonoids from Algerian Propolis. *Arabian Journal of Chemistry.* 9 (1) : 425-428
- Shadiqy, M.C.A. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis Trigona sp Asal Cibubur Menggunakan Metode DPPH. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Sharma, G. N., S. K. Dubey, N. Sati, and J. Sanadya. 2011. Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Content in *Aegle marmelos* Seeds. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 3(2): 27-29.
- Sihombing, D.T.H. 2015. *Ilmu Ternak Lebah Madu*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Simone-Finstrom, M. and M. Spivak. 2010. Propolis and Bee Health: The Natural History and Significance of Resin Use by Honey Bees. *Apidologie.* 41 (3) : 295–311.
- Siregar, H.C.H., A.M. Fuah, dan Y. Octavianty. 2011. *Propolis Madu Multikhasiat*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suranto, A. 2010. *Dahsyatnya Propolis untuk Menggempur Penyakit*. Agromedia Pustaka. Jakarta.

- Trusheva, B., M. Popova, V. Bankova, S. Simova, M. C. Marcucci, P. L. Miorin, F. R. Pasin2 and I. Tsvetkova. 2006. Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. eCAM. 3 (2) : 249 -254.
- Wang, X., K. Sankarapandian, Y. Cheng, S.O. Woo, H.W. Kwon, H. Perumalsamy and Y.J. Ahn. 2016. Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. BMC Complementary and Alternative Medicine. 65 (16) :1-12.
- Widyasari, R., 2006. Pengujian Asam Semut dan Cuka Kayu dalam Pengendalian Tungau (*Varroa destructor*) Pada Lebah Madu (*Apis mellifera*). Skripsi. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Wijayanti, N.M., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Buah Buni (*Antidesma bunius*(L.) Spreng) dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH dan Metode Folin-Ciocalteu. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Winarsih, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisus. Yogyakarta.
- Winarti, S. 2010. Makanan Fungsional. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Zaini, R. 2006. Isolasi Komponen Bioaktif Flavonoid dari Tanaman Daun Dewa (*Gynura pseudochina*). Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.

