

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI ANTIOKSIDAN SAMPEL MADU HUTAN, MADU BUDIDAYA DAN MADU MEREK DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)
PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT TESTING OF FOREST HONEY, CULTIVATED HONEY AND BRAND HONEY DPPH METHOD (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)

Galih Nugroho¹, Wahidin²

^{1,2} *Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia, 14350*

Email : galihnugroho3098@gmail.com

Abstract

Honey is a natural chemical product produced from flower nectar synthesized by bees. The benefits of honey include in the fields of cosmetics, medicine, food, as an anti-aging agent, it has activity as an antioxidant. This research aims to determine the results of phytochemical screening tests and activity tests. antioxidants from honey samples; forest honey, cultivated honey and brand honey using the DPPH method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil". The results of research that has been carried out include phytochemical screening tests obtained from all honey samples; Forest honey, cultivated honey and positive brand honey contain flavonoid, alkaloid, tannin and saponin compounds, while the antioxidant test results (IC50 value) are forest honey 54566.88 ppm, cultivated honey 91458.46 ppm and brand honey 566683.42 ppm, all honey tested has activity. weak antioxidant.

Abstrak

Madu merupakan kimia bahan alam yang dihasilkan dari nektar bunga yang disintesis oleh lebah, manfaat kegunaan madu antara lain dalam bidang kosmetika, pengobatan, makanan, sebagai anti aging, mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji skrining fitokimia dan uji aktivitas` antioksidan dari sampel madu ; madu hutan, madu budidaya dan madu merek dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil". Hasil penelitian yang telah dilakukan meliputi uji skrining fitokimia diperoleh semua sampel madu ; madu hutan, madu budidaya dan madu merek positif mengandung senyawa golongan plavonoid, alkaloid, tanin dan saponin, sedangkan hasil uji antioksidannya (nilai IC50) adalah madu hutan 54566.88 ppm, madu budidaya 91458.46 ppm dan madu merek 566683.42 ppm, semua madu yang diuji mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah.

Article History

Submitted: 25 Agustus 2024

Accepted: 28 Agustus 2024

Published: 4 September 2024

Key Words

Phytochemical screening, antioxidants and IC50

Sejarah Artikel

Submitted: 25 Agustus 2024

Accepted: 28 Agustus 2024

Published: 4 September 2024

Kata Kunci

Skrining fitokimia, antioksidan dan IC50

PENDAHULUAN

Madu adalah produk alami berasa manis yang dihasilkan lebah setelah mengkonsumsi nektar bunga dan bahan bahan manis lain dari tumbuhan. Madu merupakan campuran kompleks yang mengandung nutrisi dan senyawa bioaktif seperti karbohidrat (terutama fruktosa dan glukosa), enzim, protein, asam-asam amino, asam-asam organik, mineral, vitamin, bahan aromatik, polifenol, pigmen, lilin dan polen yang berkontribusi pada warna, aroma dan rasa (Pavlova et al., 2018).

Antioksidan memiliki fungsi yang penting bagi kesehatan tubuh manusia dalam menghambat serta menetralisasi terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas. Mekanisme ini terjadi saat reaksi-reaksi inisiasi atau propagasi pada reaksi oksidasi lemak atau molekul lainnya, dan tubuh menyerap serta menetralsisir radikal bebas. Netralisir ini dilakukan dengan memberikan elektron yang kemudian akan berubah menjadi senyawa yang lebih stabil (Henny Juliastuti et al., 2021).

Radikal bebas merupakan suatu atom molekul atau senyawa dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga sangat reaktif. Radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber terdiri dari: pertama, dari dalam tubuh (internal atau endogen) yaitu reaksi

autooksidasi atau oksidasi enzimatis, dan kedua berasal dari luar tubuh (eksternal atau eksogen) yaitu polusi udara dari kegiatan industri kimia, sistem transportasi, asap rokok dan radiasi dari alat elektronik seperti handphone, televisi dan lainnya (Fakriah et al., 2019).

Paparan radikal bebas bagi tubuh manusia bersifat akumulatif yang menyebabkan muncul berbagai penyakit apabila sistem imunitas tubuh manusia tidak dapat lagi mentoleransi keberadaan senyawa radikal bebas. Untuk mencegah penyakit kronis karena radikal bebas diperlukan antioksidan (Fakriah et al., 2019). Antioksidan yang ditemukan cukup banyak pada bahan pangan, meliputi vitamin E, vitamin C, flavonoid, dan karotenoid (Tanti Tatang Irianti et al., 2021).

Salah satu jenis bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah madu. Madu merupakan zat alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar bunga dan sekresi tanaman. Madu diketahui memiliki aktivitas antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Selain itu, madu merupakan larutan gula yang sangat jenuh, madu juga mengandung mineral, protein, vitamin, asam organik, flavonoid, senyawa fenolik, dan enzim seperti katalase, peroksida, glukosa oksidasi, dan fitokimia lainnya. Tergantung pada kondisi geografis dan iklim, berbagai jenis madu mengandung berbagai golongan senyawa alkaloid, tanin, saponin, steroid termasuk polifenol dan asam fenolik yang berperan sebagai antioksidan. Polifenol utama dalam madu adalah flavonoid dengan kandungan yang berbeda-beda antara 60 dan 460 μ g per 100g madu (Dinar Suksmayu Saputri et al., 2017).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami adalah madu yang diproduksi oleh lebah madu hutan (Nabila Aliyah Idris, 2017). Jenis madu berdasarkan sumber nektarnya dapat dibagi menjadi dua, yaitu monoflora dan poliflora. Madu monoflora merupakan madu yang diperoleh dari satu tumbuhan utama. Madu monoflora juga disebut madu ternak. Madu poliflora merupakan madu yang berasal dari nektar beberapa jenis tumbuhan bunga. Contoh dari madu jenis ini adalah madu hutan (Dinar Suksmayu Saputri et al., 2017). Salah satu yang dihasilkan adalah madu hutan (*Apis dorsata*). Madu hutan merupakan cairan alami yang memiliki rasa manis yang diperoleh dari lebah liar *Apis dorsata*, bunga dari tanaman hutan dan bagian lain dari tanaman hutan. Madu hutan memiliki kandungan karbohidrat, mineral, vitamin, asam amino, dan air yang banyak memberikan manfaat bagi manusia. Tiap jenis madu memiliki efek radikal bebas yang berbeda-beda dimana jumlah dan kandungan antioksidannya sangat bergantung dari sumber nektarnya (Dinar Suksmayu Saputri et al., 2017). Tujuan Penelitian untuk mengetahui senyawa aktif golongan senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid dan untuk mengetahui aktivitas antioksidan senyawa aktif sampel madu, madu hutan, madu budidaya dan madu produksi

Madu di Indonesia sangat beragam. Keragaman madu tersebut dipengaruhi oleh perbedaan asal daerah, musim, jenis lebah, jenis tanaman sumber nektar, cara hidup lebah (budidaya atau liar), cara pemanenan serta cara penanganan pasca panen. Berdasarkan Badan Standardisasi Nasional (BSN) telah menetapkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 8664:2018 Madu, untuk menjamin kualitas madu (BSN (Badan Standardisasi Nasional), 2021).

Untuk menerapkan SNI Madu, BSN sendiri juga telah menetapkan skema sertifikasi SNI nya berdasarkan Peraturan Badan Standardisasi Nasional Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2019 tentang Skema Penilaian Kesesuaian Terhadap Standar Nasional Indonesia Sektor Pangan. Adapun Lembaga Sertifikasi Produksi yang siap melakukan kegiatan sertifikasi untuk ruang lingkup madu yaitu Laboratorium Jasa Pengujian, Kalibrasi, dan Sertifikasi Institut Pertanian Bogor (LJPKS IPB) di Bogor, Jawa Barat (BSN (Badan Standardisasi Nasional), 2021).

Tidak semua golongan lebah menghasilkan madu atau yang disebut sebagai lebah madu (honey bee). Diketahui hanya tiga Tribes lebah yang dapat menghasilkan madu, yaitu Apini (*true honey bee*), Meliponini (*stingless bee*) dan Bombini (*bumble bee*) Gambar 1.



Gambar 1 Tiga Kelompok Lebah Madu
(Sumber: Bambang Supeno et al, 2016)

Kandungan antioksidan pada madu terdiri dari antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis pada madu yaitu katalase, glukosa oksidase, dan peroksidase, sedangkan antioksidan non enzimatis yaitu asam askorbat, flavonoid, asam amino dan protein. Aktivitas antimikroba pada madu disebabkan adanya efek osmotik, keasaman, hidrogen peroksida, dan faktor fitokimia (Evahelda et al., 2017).

Senyawa antioksidan polifenol banyak terdapat pada madu. Madu merupakan bahan makanan yang digunakan untuk bahan pemanis tetapi juga bisa untuk mengobati berbagai penyakit. Senyawa antioksidan pada madu antara lain flavonoid (quersetin, luteolin, kaempferol, apigenin, chrysin, galangin), asam fenolat, dan turunannya yang termasuk kelas polifenol. Polifenol pada madu ini berfungsi sebagai zat antibakteri dan menjaga tubuh dari serangan radikal bebas.

Kandungan nutrisi dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan adalah vitamin C, asam organik, enzim, asam fenolat, flavonoid dan beta karoten yang bermanfaat sebagai antioksidan tinggi (Silvester Maximus Tulandi, 2019). Senyawa dengan aktivitas antioksidan yang diteliti adalah senyawa fenolat. Senyawa fenolat dalam tumbuhan dapat berupa fenol, antraquinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid, lignin dan tanin. Senyawa fenolat telah diketahui memiliki berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkhelat logam, peredam terbentuknya oksigen singlet serta pendonor elektron (Stefanny Agnes Salim et al., 2019).

Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu atom molekul atau senyawa dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga sangat reaktif. Radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber terdiri dari: pertama, dari dalam tubuh (internal atau endogen) yaitu reaksi autooksidasi atau oksidasi enzimatis, dan kedua berasal dari luar tubuh (eksternal atau eksogen) yaitu polusi udara dari kegiatan industri kimia, sistem transportasi, asap rokok dan radiasi dari alat elektronika seperti handphone, televisi dan lainnya (Fakriah et al., 2019).

Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital terluarnya. Radikal bebas yang paling banyak dikenal yaitu spesies oksigen reaktif (SOR) dan spesies nitrogen reaktif (SNR). SOR merupakan mediator yang berperan pada kerusakan intraseluler lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat. SOR bersifat sangat reaktif karena kondisinya tidak stabil (memiliki elektron yang tidak berpasangan). Stres oksidatif terjadi ketika ada ketidakseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan sehingga meningkatkan kelebihan produksi SOR, akibatnya terjadi kerusakan jaringan. SOR berperan penting pada patofisiologi inflamasi. Senyawa antioksidan mampu

memperlambat atau mencegah proses oksidasi yang menghasilkan radikal bebas, serta memecah rantai berantai yang dapat merusak sel dan jaringan, sehingga antioksidan dapat digunakan sebagai pilihan terapi untuk penyakit inflamasi yang umumnya disebabkan oleh SOR (Kiki Ikrima et al, 2020).

Antioksidan

Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif. Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif dari oksidan di dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas dari senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Metode DPPH paling banyak digunakan dalam skrining aktivitas antioksidan pada tanaman obat. Uji DPPH berdasarkan reduksi larutan metanol dari radikal bebas DPPH oleh penghambat radikal bebas. Prosedur pengujian melibatkan pengukuran penurunan absorpsi DPPH pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Penurunan ini sebanding dengan konsentrasi menghambat radikal bebas yang ditambahkan pada larutan DPPH. Aktivitas ditunjukkan dengan konsentrasi efektif yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50% (IC50). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH yang mendasarkan prinsip kerjanya pada sampel (mengandung senyawa bersifat antioksidan) yang dapat meredam radikal bebas (DPPH) (Sari, 2012). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC50 kurang dari 50 bpj, kuat apabila nilai IC50 50- 100 bpj, sedang apabila nilai IC50 100-150 bpj, dan lemah apabila nilai IC50 150-200 bpj. Nilai IC50 200-1000 bpj dinyatakan kurang aktif namun masih berpotensi sebagai antioksidan (Mayawati, Pratiwi & Wijianto, 2014)

METODOLOGI PENELITIAN

Metode penelitian skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak madu yaitu metode DPPH secara eksperimental di laboratorium dengan bahan uji madu, madu hutan, madu budidaya dan madu bermerek.

Penelitian dilaksanakan bulan Januari s.d Juli 2024, tempat penelitian di laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi UTA'45 Jakarta dan Laboratorium Terpadu IPB Bogor.

Bahan Uji

Bahan uji madu akan didapatkan dari toko/warung jamu/mall dengan kriteria; madu hitam (madu asli dari hutan), madu asli hasil budidaya dari peternak lebah, madu produk berupa sediaan bermerek, total sampel sebanyak 3 sampel, semua didapatkan dari Mall sekitar Tanjung Priok Jakarta Utara.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah madu hitam (madu asli dari hutan), madu asli hasil budidaya dari peternak lebah, madu produk berupa sediaan bermerek, kertas saring Whatman No 42, pelarut diklorometan p.a, pelarut n-heksan p.a, asam askorbat, serbuk DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil), metanol p.a, aluminium foil, wrapping plastic dan tissue roll.

Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah wadah madu, batang pengaduk, neraca analitik, kuas, rotary evaporator, corong, botol vial, falcon tube, oven, pipet tetes, pipet volum, tabung reaksi, rak tabung, bulb, dan spektrofotometer UV-Vis.

Sampel uji

Sampel yang digunakan adalah madu hutan, madu budidaya dan madu produksi selanjutnya di *freeze dry* selama 48 jam untuk mengurangi jumlah air dalam madu.

Uji organoleptik (SNI 8664:2018)

Uji organoleptik madu dengan panca indra yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang panelis yang terlatih.

Ekstraksi Madu dengan aquades

Ekstraksi dilakukan dengan menimbang sebanyak 2 gram madu masukkan kedalam botol vial yang telah diketahui bobotnya. Kemudian madu dimaserasi dengan menggunakan pelarut akuades sebanyak 30 mL sambil disonikasi menggunakan alat sonikator selama 2 x 30 menit. Setelah itu larutan didekantasi hingga didapatkan maserat dan residu. Maserat yang didapatkan dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 55 °C, kemudian ekstrak ditimbang untuk dihitung % rendemennya.

Ekstraksi Madu dengan Pelarut n-Heksan

Ekstraksi dilakukan dengan menimbang sebanyak 2 gram madu kedalam falcon tube yang telah diketahui bobotnya. Lalu dimaserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 30 mL sambil disonikasi menggunakan alat sonikator selama 2 x 30 menit. Setelah itu didekantasi hingga didapatkan maserat dan residu. Maserat yang didapatkan dievaporasi dengan cara maserat dimasukkan kedalam botol vial yang telah diketahui bobotnya lalu ditutupi dengan aluminium foil yang telah diberikan sedikit lubang kecil. Maserat itu kemudian dibiarkan hingga pelarut n-heksan yang digunakan menguap dan menyisakan ekstrak n-heksan madu. Setelah itu ditimbang untuk dihitung % rendemennya.

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid dilakukan Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloida, diambil 3 tabung reaksi, lalu kedalamnya dimasukkan 0,5 ml filtrat. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi yang berbeda. Tabung reaksi 1: ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, tabung reaksi 2: ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, tabung reaksi 3: ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas (Depkes RI, 1995).

Uji Flavonoid dilakukan Sampel madu \pm 2 gram ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit, disaring hingga diperoleh filtrat yang kemudian digunakan sebagai larutan percobaan. Kedalam 5 ml larutan percobaan (dalam tabung reaksi) ditambahkan larutan NaNO₂ 5% sebanyak 1 ml lalu dikocok, tambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 1,5 ml dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu tambahkan NaOH 1 M 2 ml, jika positif mengandung flavonoid warna akan berubah menjadi jingga (Ghazziah, 2018).

Uji Tanin dilakukan timbang sampel 1 g dididihkan selama 3 menit dalam 10 ml air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida, jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harborne, 1987).

Uji Saponin dilakukan sampel timbang 0,5 g di-masukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang banyak selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

Uji antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM dilakukan dengan cara serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,015 g kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur hingga volume 100 mL lalu dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Stock Asam Askorbat 500 ppm dilakukan timbang asam askorbat 0,005 g, lalu dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a, dihomogenkan sehingga didapatkan larutan asam askorbat konsentrasi 500 ppm. Setelah itu larutan asam askorbat 500 ppm dipipet 0,1 mL kemudian ditambahkan metanol p.a sebanyak 9,9 mL sehingga didapatkan larutan asam askorbat konsentrasi 5 ppm dengan volume total 10 mL.

Pembuatan Larutan stock Ekstrak n-Heksan 500 ppm dilakukan timbang madu sebesar 0,005 g yang diperoleh dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi larutan 500 ppm.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak H₂O

Ekstrak air madu sebesar 0,3329 g yang diperoleh dilarutkan dengan 10,1 mL metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi larutan 33.000 ppm. Setelah itu larutan uji 500 ppm dibuat dengan memipet larutan ekstrak air 33.000 ppm sebanyak 0,15 mL lalu ditambahkan metanol 9,85 mL hingga didapatkan volume 10 mL.

Pembuatan Larutan Stock Sampel Madu 500 ppm

Sampel madu ditimbang sebanyak 0,005 g. Kemudian madu dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 10 mL kedalam botol vial kosong setelah itu dihomogenkan.

Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan asam askorbat dilakukan dengan membuat deret standar asam askorbat terlebih dahulu dengan cara memipet asam askorbat konsentrasi 5 ppm masing-masing 0,25 mL, 0,5 mL, 1 mL, 2 mL dan 4 mL kedalam tabung reaksi yang berbeda untuk membuat deret standar 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Setelah larutan asam askorbat ditambahkan masing-masing 1 mL larutan DPPH 0,4 mM. Setelah itu larutan asam askorbat ditambahkan metanol p.a masing-masing 3,75 mL, 3,5 mL, 3 mL, 2 mL dan 0 mL sehingga didapatkan volume total 5 mL untuk masing-masing deret standar.

Setelah deret standar diinkubasi dengan cara ditempatkan pada ruangan yang gelap pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

Variabel Uji

Variabel yang memiliki kemampuan untuk mempengaruhi atau menyebabkan perubahan atau munculnya variabel dependen disebut variabel independen (Purwanto, 2019). Variabel bebas pada penelitian adalah jenis madu. Variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas disebut sebagai variabel dependen (Purwanto, 2019). Variabel terikat pada penelitian ini adalah senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan Ic₅₀.

Kategori Nilai IC₅₀: nilai IC₅₀ < 50 ppm sangat kuat, IC₅₀ 50 – 100 ppm kuat. IC₅₀ 100-150 ppm sedang dan IC₅₀ 151 – 200 ppm lemah.

Analisis aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Metode DPPH

Landasan analisis dengan mengamati model reaksi aktivitas antioksidan, mereaksikan larutan uji sampel yang mengandung senyawa antioksidan dengan senyawa radikal bebas pereaksi DPPH. Pengamatan dilakukan dengan mengamati penurunan konsentrasi DPPH berupa penurunan nilai absorbansi pada instrumen spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm

Ekstrak air, n-heksan dari sampel madu dengan konsentrasi 500 ppm masing-masing dipipet sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL dan 1,6 mL untuk membuat deret konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm dan 160 ppm dari masing-masing ekstrak. Setelah itu larutan deret ukur ditambahkan masing-masing 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dan ditambahkan metanol p.a hingga didapatkan volume total 5 mL.

Setelah itu dibuat larutan kontrol dengan memipet larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi. Setelah itu volume dicukupkan sampai 5 mL dengan menggunakan metanol p.a. Setelah itu deret ukur dari masing-masing ekstrak dan larutan kontrol diinkubasikan pada suhu ruang selama 30 menit diruang yang gelap. Kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

Dari pengamatan dengan spektrofotometer UV-Vis akan diperoleh data absorbansi kontrol (Abskontrol) dan absorbansi sampel (Abs sampel). Maka dari data tersebut dapat dihitung aktivitas antioksidan dengan rumus berikut (Puspitasari dan Ningsih, 2016) :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{k} \times 100\%$$

Analisis hasil

Analisis hasil skrining fitokimia dan uji antioksidan terhadap radikal bebas DPPH merupakan % penghambatan, dihitung nilai IC₅₀ nya, berdasarkan metode deskriptif analisis. Hubungan nilai IC₅₀ dengan aktivitas antioksidan berbanding terbalik, semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Sebaliknya nilai IC₅₀ semakin besar maka aktivitas antioksidan semakin lemah. Menghitung dan menganalisis nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi linear. Data % hambatan dan konsentrasi larutan digunakan untuk mencari nilai IC₅₀ menggunakan persamaan regresi linear $y = a + bx$ dimana y adalah % hambat (senilai 50) dan x adalah nilai IC₅₀ (Beksono, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Samplng bahan uji madu

Sampel madu didapatkan dari sekitar Mall Tanjung Priok Jakarta Utara, mula-mula mendata dan mencatat berbagai jenis madu yang beredar di pasaran diperoleh 7 jenis sampel madu, dengan dikelompokkan terdiri dari 2 jenis madu hutan, 2 jenis madu budidaya dan 3 jenis madu bermerek, kemudian diambil secara random satu sampel dari setiap kelompok, madu hutan 1 sampel, madu budidaya 1 sampel dan madu bermerek 1 sampel.

Uji pendahuluan bahan uji madu

Uji pendahuluan bahan uji madu menggunakan metode pengamatan visual secara organoleptik, meliputi warna, rasa, bau dan bentuk, dari tiga sampel madu disajikan pada seperti tabel 3. menunjukkan bahwa mengenai warna dari sampel madu mulai dari sampel madu hutan (MA) warna coklat kehitaman, sampel madu budidaya (MB) warna coklat dan sampel madu merek (MC) warna coklat muda. Warna cerah sampai gelap ini menunjukkan variasi warna madu dari warna coklat muda, coklat sampai warna coklat gelap. Perbedaan warna madu ini disebabkan oleh faktor seperti reaksi madu dengan besi alat pengolah, ketidak

stabilan fruktosa dalam larutan asam, jenis tanaman penghasil nektar dan reaksi antara gula pereduksi dengan senyawa yang mengandung asam amino.

Mengenai rasa madu semakin manis menunjukkan kadar sukrosa yang berbeda, semakin rendah kadar sukrosa rasa madu sedikit pahit. Bentuk sampel madu menunjukkan semakin tinggi dari bentuk encer sampai pekat menunjukkan madu asli lebih pekat dari madu merek sebagaimana gambar.

Tabel 1. Hasil uji pendahuluan bahan uji madu

No	Kode sampel Madu	Bentuk	Warna	Rasa	Bau	Keterangan
1	MA	Kental	Coklat kehitaman	Manis	Khas madu	Visual
2	MB	Cair kental	Coklat kekuningan	Manis	Khas madu	Visual
3	MC	Cair	Coklat muda	Manis	Khas madu	Visual

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Ekstraksi Dengan Aquadest

Sebagaimana Tabel 2, hasil ekstraksi menggunakan pelarut aquadest. Sampel madu didapatkan % rendemen, yaitun rendemen madu MA 0,25 %, rendemen madu MB 0,20 %, rendemen madu MC 0,30%. %. Rendemen madu merek (MB) relatif tinggi karena banyak komponen madu yang bersifat polar banyak tertarik oleh larutan penyari aquadest.

Tabel 2. Hasil ekstraksi aquadest

No	Jenis Madu/kode sampel	Berat sampel	Hasil ekstraksi	%R
1	MA	2 Gram	0,5 Gram	0,25 %
2	MB	2 Gram	0,4 Gram	0,20 %
3	MC	2 Gram	0,6 Gram	0,30 %

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Ekstraksi n-Heksana

Sebagaimana Tabel 3, hasil ekstraksi menggunakan pelarut n-Heksana. Sampel madu didapatkan % rendemen madu MA 0,05 %, % rendemen madu MB 0,075 %, % rendemen madu MC 0,0,06 %. % Rendemen madu merek (MB) relatif tinggi karena banyak komponen madu yang banyak tertarik oleh larutan penyari n-Heksana.

Tabel 3. Hasil ekstraksi n-Heksana

No	Jenis Madu/kode sampel	Berat sampel	Hasil ekstraksi	%R
1	MA	2 Gram	0,10 gram	0,05 %
2	MB	2 Gram	0,15 gram	0,075 %
3	MC	2 Gram	0,12 gram	0,06 %

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia sampel madu

Skrining fitokimia tiga (3) sampel madu didapatkan golongan senyawa sebagaimana tabel 4.

Tabel 4. Hasil skrining fitokimia bahan uji madu

No	Jenis Madu/kode sampel	Alkaloid	Tanin	Plavonoid	saponin	Keterangan
1	MA	+	+	+	+	Terdeteksi

2	MB	+	+	+	+	Terdeteksi
3	MC	+	+	+	+	Terdeteksi

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Skrining Fitokimia Ekstraks Aquadest (H₂O)

Skrining fitokimia ekstraks aquadest dari 3 sampel madu diperoleh golongan senyawa sebagaimana tabel 5.

Tabel 5 Hasil skrining fitokimia bahan uji madu

No	Jenis Madu/kode sampel	Alkaloid	Tanin	Plavonoid	saponin	Keterangan
1	MA	+	+	+	+	Terdeteksi
2	MB	+	+	+	+	Terdeteksi
3	MC	+	+	+	+	Terdeteksi

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Skrining fitokimia ekstraks n-Heksana

Tabel 6. Hasil skrining fitokimia bahan uji madu

No	Jenis Madu/kode sampel	Alkaloid	Tanin	Plavonoid	saponin	Keterangan
1	MA	+	+	+	+	Terdeteksi
2	MB	+	+	+	+	Terdeteksi
3	MC	+	+	+	+	Terdeteksi

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Hasil skrining fitokimia / identifikasi golongan metabolit sekunder sampel madu Ekstraks n-heksana dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 7. Hasil skrining fitokimia bahan uji madu

No	Jenis Madu/kode sampel	Alkaloid	Tanin	Plavonoid	Saponin	keterangan
1	MA	+	+	+	+	Terdeteksi
2	MB	+	+	+	+	Terdeteksi
3	MC	+	+	+	+	Terdeteksi

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Identifikasi metabolit sekunder merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dalam sampel madu yang akan diuji (Dewatisari, Rumiyaniti & Rakhmawati, 2017). Menurut Sangi, Runtuwene, Simbala, & Makang (2008) dalam sampel madu diketahui mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Hasil dari pemeriksaan identifikasi metabolit sekunder sampel madu yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa sampel madu mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Tabel 5, 6 dan 7).

Pada pengujian senyawa alkaloida memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi mayer dan endapan merah kehitaman pada pereaksi Bouchardat. Metode pengendapan ini menghasilkan senyawa kompleks sukar larut dengan logam berat seperti peraksi mayer (Jamal, 2010). Senyawa alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik (Harborne, 1987). Pada alkaloid seperti asam amino fenilalanin, alkaloid indol dari asam amino triptofan, terdapat

gugus hidroksil yang diduga dapat bertindak sebagai antioksidan melalui pemecahan ikatan hidrogen.

Pada pengujian senyawa golongan tanin, sampel menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna kehitaman saat ditambahkan FeCl_3 . Tanin membentuk warna kehitaman dengan beberapa ion logam misalnya ion besi, kalsium, tembaga dan magnesium. Senyawa tanin terdiri dari katekin, luekoantioasin dan asam galat, asam kafeat dan klorogenat serta ester dari asam- asam tersebut yaitu 3-galloilepikatekin, fenilkafeate dan sebagainya. Senyawa tanin tidak larut dalam pelarut non polar, seperti eter, kloroform dan benzena tetapi mudah larut dalam air, dioksan, aseton, dan alkohol serta sedikit larut dalam etil asetat (Harborne, 1987).

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Selain sebagai pewarna, tanin juga merupakan antioksidan yang berfungsi untuk mencegah kanker (Sibuea, 2015).

Pada pengujian saponin, terbentuk busa stabil saat dikocok yang tidak hilang saat didiamkan. Hasil pengujian menunjukkan adanya busa stabil saat pengocokan dan saat didiamkan, tapi tidak terlalu banyak. Hal ini menunjukkan bahwa dalam daun madu terdapat saponin tetapi dalam jumlah yang sedikit. Saponin adalah senyawa golongan yang mempunyai kemampuan menghemolisis sel darah. Aglikon saponin dapat berupa senyawa steroid atau terpenoid (Jamal, 2010).

Pada pengujian flavonoid menunjukkan hasil yang positif dengan terbentuknya warna jingga kemerahan. Warna jingga kemerahan akan terbentuk pada identifikasi flavonoid sampel madu menurut reaksi warna akibat penambahan NaOH yaitu salah satunya pada Katekin. (Jamal, 2010). Salah satu senyawa aktif yang dapat dijadikan sebagai senyawa antioksidan yaitu berupa senyawa Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenol yang sering ditemukan diberbagai macam tanaman. Flavonoid merupakan golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen, dan pigmen tersebut memiliki manfaat yang penting sebagai antioksidan. (Kasminah, 2016).

Hasil uji antioksidan

Aktivitas antioksidan sampel madu hutan, madu budidaya dan madu merek.

Tabel 8. Hasil uji antioksidan sampel madu

No	Jenis Madu	IC50 (ppm) / mg/kg	Keterangan
1	MA	54566.88	Sangat lemah
2	MB	91458.46	Sangat lemah
3	MC	566683.42	Sangat lemah

Keterangan : MA = Madu hutan. MB= Madu budidaya. MC= Madu merek

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap sampel madu, madu hutan (MA) IC50 54566.88 bpj, madu budidaya (MB) 91458.46 bpj dan madu merek (MC) 566683.42 menunjukkan bahwa semua sampel mampu menetralkan radikal bebas DPPH yang ditunjukkan dengan adanya penurunan absorbansi dibandingkan dengan blangko (larutan tanpa sampel). Hasil pengujian dilihat dari nilai IC50 juga menunjukkan madu hutan memberikan nilai IC50 rendah dibandingkan dengan sampel madu lain, hal ini menunjukkan madu hutan mempunyai daya antioksidan lebih tinggi. Namun semuanya mempunyai daya antioksidan lemah.

Analisis aktivitas antioksidan ini dilakukan secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan tumbuhan, untuk mendeteksi golongan senyawa tertentu yang dapat bekerja secara otomatis (Harborne, 1987). Senyawa tanaman tanpa warna diukur

pada jangka 200 sampai 400 nm, sedangkan senyawa berwarna pada jangka 200 sampai 700 nm. Langkah awal yang harus dilakukan adalah optimasi panjang gelombang. Optimasi panjang gelombang tersebut sebagai parameter pengukuran pada pengujian aktivitas antioksidan.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, aktivitas antioksidannya lebih tinggi, mudah diperoleh dan vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain. Vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Rumangu, Yudistira & Rotinsulu, 2019).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka akan semakin rendah nilai absorbansi, semakin tinggi % inhibisi, kemudian dapat dihitung nilai IC₅₀, dan diperoleh nilai IC₅₀ yang semakin rendah. Semakin rendah nilai IC₅₀ maka semakin baik aktivitas peredaman radikal bebasnya. IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50%*) adalah konsentrasi sampel dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$ (Pertiwi, Yari & Putra, 2016).

Pada Fraksi n -heksan hasil uji antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ 1026,75 bpj. Hal ini menunjukkan, senyawa yang terkandung dalam fraksi n -heksan tidak memiliki sifat antioksidan. Senyawa yang paling banyak larut pada n -heksan adalah jenis senyawa non polar seperti lemak, lilin dan minyak (Hasanah, Amaliani & Rikmasari, 2017)

Hubungan nilai IC₅₀ dengan aktivitas antioksidan berbanding terbalik, semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Sebaliknya nilai IC₅₀ semakin besar maka aktivitas antioksidan semakin lemah. Menghitung dan menganalisis nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi linear. Data % hambatan dan konsentrasi larutan digunakan untuk mencari nilai IC₅₀ menggunakan persamaan regresi linear $y = a + bx$ dimana y adalah % hambat (senilai 50) dan x adalah nilai IC₅₀ (Beksono, 2014)..

KESIMPULAN

Hasil skrining fitokimia dari tiga sampel madu ; madu hutan, madu budidaya, madu merek positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) dari tiga sampel madu; madu hutan 54566.88 ppm, madu merek 566683.42 ppm dan madu budidaya 91458.46 ppm, ke tiga sampel madu memiliki aktivitas antioksidan lemah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada apt.Drs. Wahidin. MSi yang telah membimbing dan Kepala Laboratorium Fak. Farmasi UTA'45 Jakarta dan Laboratorium Terpadu IPB Bogor yang telah memfasilitasinya.

DAFTAR PUSTAKA

- A. MU'NISA. 2023. Antioksidan Pada Tanaman dan Peranannya Terhadap Penyakit Degeneratif. Surabaya: Brilian Internasional Surabaya.
- Abu Bakar, M. F., Sanusi, S. B., Abu Bakar, F. I., Cong, O. J., & Mian, Z. (2017). Physicochemical and antioxidant potential of raw unprocessed honey from Malaysian stingless bees. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(11), 888±894. <https://doi.org/10.3923/pjn.2017.888.894>
- Azmalaeni Rifkah Ansyarif, Desy Nurhasanah Sari. 2023. Uji Sifat Fisika dan Kimia Madu Hutan (Apis dorsata) Berdasarkan SNI 8664-2018. *Cokroaminoto Journal of Chemical Science (CJCS)*, 5(2), 47–50. <https://science.e-journal.my.id/cjcs/article/view/165>

- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2021. SNI-01-3545-2013: SNI Untuk Jamin Kualitas Mutu Madu. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional Indonesia. <https://bsn.go.id/main/berita/detail/12235/sni-untuk-jamin-kualitas-mutu-madu>
- Bambang Supeno, Erwan. 2016. Pengenalan Pembelajaran Tentang Lebah Madu (Honey Bees). Lombok: Arga Puji Press Mataram Lombok <http://eprints.unram.ac.id/29398/1/BUKU-1.pdf>
- Beksono, H. R. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan Metode DPPH. Skripsi.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., dan Gallmann, P. 2008. Honey for Nutrition and Health. *American Journal of the College of Nutrition*. 27: 677–689.
- Dirjen POM. (1995), Farmakope Indonesia, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dinar Suksmayu Saputri, Yolli Eka Putri. 2017. Aktivitas Antioksidan Madu Hutan Di Beberapa Kecamatan Di Kabupaten Sumbawa Besar. *Jurnal Tambora*. Vol. 2 No. 3. <https://jurnal.uts.ac.id/index.php/Tambora/article/view/170/160>
- Evahelda, Filli Pratama, Nura Malahayati, Budi Santoso. 2017. Sifat Fisik dan Kimia Madu dari Nektar Pohon Karet di Kabupaten Bangka Tengah, Indonesia. DOI: <http://doi.org/10.22146/agritech.16424>. *JURNAL AGRITECH*, 37(4), 363-368. Tersedia online di <https://jurnal.ugm.ac.id/agritech/>
- Fahay, A. J., Rijal, S., Arsal, A. S. F., Kanang, I. L. D., dan Dwimartyono, F. 2022. Fakumi Medical Journal. *Fakumi Medical Journal*, 2(10), 687-693. <https://fmj.fk.umi.ac.id/index.php/fmj>
- Fakriah, Eka Kurniasih, Adriana, Rusydi. 2019. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi, Jurnal hasil-hasil Penerapan IPTEKS dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1), 1-7. <https://e-jurnal.pnl.ac.id/vokasi/article/view/960/863>
- Firman Jaya. 2017. Produk-Produk Lebah Madu Dan Hasil Olahannya. Malang: UB Press Malang. <https://books.google.co.id/books?id=dWpODwAAQBAJ&pg=PR5&lpg=PR5&dq=Produk-Produk+Lebah+Madu+dan+Hasil+Olahannya&source=bl&ots=10mzE0ywh-&sig=ACfU3U1pk6ZUqaoimz6wRtUoPDoH4ronng&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwim083MtcqDAxXLR2wGHV98Ayk4FBDoAXoECAUQAw>
- Harborne, J. B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, Edisi kedua, 5, 69-76, ITB Press, Bandung.
- Henny Juliastuti et., al. 2021. Sayuran dan Buah Berwarna Merah, Antioksidan Penangkal Radikal Bebas. Yogyakarta: PT. Deepublish Publisher. https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=vZY0EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Buku+Antioksidan+Alami+dan+Radikal+Bebas:+Potensi+dan+Aplikasinya+dalam+Kesehatan&ots=qJhbkW5DDu&sig=e_hNjAweiWTcwMs1kkdPrtheE5E&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Hadisoesilo, S., Kahono, S. dan Suwandi. (2011). Potensi Lembah Madu Hutan Apid dorsata di Kawasan Hutan Taman Nasional Tesso Nilo, Riau, dan Kabupaten Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Laporan Survei Pontianak.
- Idris, N. A. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metodode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Thesis. Makassar: Alauddin State Islamic University Makassar. 21–22.
- Kiki Ikrima, Riezki Amalia, Mutakin, Jutti Levita. 2020. Peran Spesies Oksigen Reaktif Pada Inflamasi Serta Antioksidan Alami Sebagai Fitoterapi. *Farmaka*, 17(3), 198-211. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/22010/pdf>

- Mayawati, E., Pratiwi, L., & Wijianto, B. (2014). (Carica papaya L .) Dalam Formulasi Krim Terhadap DPPH (2 , 2-diphenyl-1-picrylhydrazil) Bagian Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran , Universitas Tanjungpura Bagian Kimia Farmasi , Fakultas Kedokteran , Universitas Tanjungpura ANTIOXIDANT EFFECT O. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Universitas Tanjungpura*, 1(1), 5–8.
- Mega Trishuta Pathiassana, Nuriman, Ayu Desi Septiani, Nila Adelina Saputri, Nurul Gaibi, Lestian, Rimba Trishuta Pathiussina. 2021. Karakteristik Mutu Kimia Madu Hutan Lebah Apis Dorsata Di Kecamatan Lunyuk. Vol. 6 no. 1, Juni 2021, pp. 117-126. <https://doi.org/10.26877/jiphp.v6i1.12430>
<https://journal.upgris.ac.id/index.php/jiphp/article/view/12430/pdf>
- Nabila Aliyah Idris. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)”. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi, Jurusan Kimia. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
http://repositori.uin-alauddin.ac.id/4150/1/NABILA%20ALIYAH%20IDRIS%20%2860500113077%29%20PDF_opt.pdf
- Pavlova, T., Stamatovska, V., Kalevska, T., Dimov, I., Nakov, G. 2018. Quality characteristics of honey: a review. *Proceedings of University of Ruse - 2018*, 57(10.2),32-37.
https://www.researchgate.net/profile/Tatjana-Pavlova/publication/336085951_QUALITY_CHARACTERISTICS_OF_HONEY_A_REVIEW/links/5d8dd1f5299bf10cff132c04/QUALITY-CHARACTERISTICS-OF-HONEY-A-REVIEW.pdf
- Puspitasari, E., dan Ningsih, I. Y., 2016, Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (Salacca zalacca (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH, *Pharmacy*, 13 (1), 122.
- Putu Yudy Wijaya, I Gede Putu Kawiana, Kadek Oki Sanjaya, Ni Nyoman Reni Suasih. 2022. Penguatan Nature Branding pada Produk Madu Umkm YBS”. *Jurnal Budimas*, Vol.4 No.1 hal.72–77.
<https://jurnal.stie-aas.ac.id/index.php/JAIM/article/view/4033/1827>
- Sayuti, K.; Yenrina, R., 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*; Andalas Univesity Press: Padang
- Stefanny Agnes Salim, Febrina Amelia Saputri, Nyi Mekar Saptarini, Jutti Levita. 2019. Review Artikel: Kelebihan dan Keterbatasan Pereaksi Folin Ciocalteu Dalam Penentuan Kadar Fenol Total Pada Tanaman. *Farmaka*, 18(1), 46-57.
<https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/21909/pdf>
- Sulistyo Prabowo, Yuliani, Yudha Agus Prayitno, Kholida Lestari, dan Aprillia Kusesvara. 2019. Penentuan Karakteristik Fisiko-Kimia Beberapa Jenis Madu Menggunakan Metode Konvensional dan Metode Kimia. DOI: <http://dx.doi.org/10.35941/jtaf.1.2.2019.2685.66-73>. *Journal of Tropical AgriFood*, 1(2), 66-73.
<https://e-journals.unmul.ac.id/index.php/JTAF/article/view/2685/pdf>
- Sihombing, D.T.H. 2015. *Ilmu Ternak Lebah Madu*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Silvester Maximus Tulandi. 2019. The Effect Of Storage Temperature On The Quality Of Honey. *SANITAS: Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*, 10(1), 59-71.
<https://doi.org/10.36525/sanitas.2019.6>
<https://media.neliti.com/media/publications/299104-the-effect-of-storage-temperature-on-the-1366376e.pdf>

- Tanti Tatang Irianti, Kuswandi, Sindu Nuranto, Purwanto. 2021. *Antioksidan dan Kesehatan*. Badan Penerbit dan Publikasi. Yogyakarta: UGM Press.
<https://ugmpress.ugm.ac.id/id/product/farmasi/antioksidan-dan-kesehatan>
- Tyagita, N., Safitri, A. H., dan Widyawati, E. 2021. *Penuaan dan Stress Oksidatif*. Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Zulkhairi Amin, F. A., Sabri, S., Mohammad, S. M., Ismail, M., Chan K.W., Ismail N., Zawawi n. 2018. *Therapeutic Properties of StinglessBee Honey in Comparison with European Bee Honey*. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2018, 1-12.
<https://doi.org/10.1155/2018/6179596>
- Quinzheilla Putri Arnanda, Rina Fajri Nuwarda. 2019. *Penggunaan Radiofarmaka teknesium-99M dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu*. *Farmaka*, 17(2), 236-243.