

## OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI PROPOLIS DARI LIMBAH PERASAN MADU TRIGONA DENGAN PENGGUNAAN PELARUT AIR

[Optimization of Propolis Extraction from Juice-Squeezed of Trigona Honey Waste using Water Solvent]

Tri Isti Rahayu <sup>1\*</sup>, Yesica Marcelina Romauli Sinaga<sup>1</sup>, Firman Fajar Perdhana <sup>1</sup>,  
Lulu Diani Zuhdia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>)Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan  
Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri Universitas Mataram

\*email: [tristirahayu@unram.ac.id](mailto:tristirahayu@unram.ac.id)

### ABSTRACT

*Propolis is a natural resin produced by bees and has various health benefits that have been extensively studied. The extraction of propolis from Trigona honey pass residues generally uses organic solvent. Propolis can be extracted using water as a solvent with certain treatments. The study aims to obtain an optimal propolis extraction using a water solvent which is known to be safe and cheap. The optimization process of water extraction was combined with various extraction methods such as cold maceration, hot maceration (temperature 60°C), Ultrasound-Assisted Extraction (UAE), and Microwave-Assisted Extraction (MAE), compared to organic solvent controls and commercial propolis. The parameters observed from the obtained extracts are pH, phytochemical screening (alkaloids, phenolics, saponins, steroids, and flavonoids), color, antioxidant activity, and antibacterial activity. The data was analyzed using analysis of variance with the level of significance set at 5%. The results showed that the water extraction with MAE produced propolis extract with the highest antioxidant content and performed bacterial growth inhibition against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.*

**Keywords:** extraction method, propolis, Trigona

### ABSTRAK

Propolis merupakan zat resin alami yang dihasilkan oleh lebah dan memiliki berbagai manfaat kesehatan yang telah banyak diteliti. Ekstraksi propolis dari limbah perasan madu Trigona umumnya masih menggunakan pelarut organik. Propolis dapat diekstraksi menggunakan pelarut air dengan beberapa perlakuan tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan ekstraksi propolis yang optimal dengan menggunakan pelarut air yang diketahui aman dan murah. Optimasi proses ekstraksi air dipadukan dengan berbagai metode ekstraksi seperti maserasi dingin, maserasi panas (suhu 60°C), *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE), dibandingkan dengan kontrol pelarut organik dan propolis komersial. Parameter yang diamati dari ekstrak yang diperoleh adalah pH, skrining fitokimia (alkaloid, fenolik, saponin, steroid, dan flavonoid), warna, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antibakteri. Data dianalisis menggunakan analisis varians dengan taraf signifikansi 5%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstraksi air dengan MAE menghasilkan ekstrak propolis dengan kandungan antioksidan tertinggi dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

**Kata kunci:** metode ekstraksi, propolis, trigona

## PENDAHULUAN

Lebah trigona merupakan lebah tanpa sengat yang mampu menghasilkan madu. Sifatnya yang tak bersengat membuat lebah jenis ini lebih mudah dibudidayakan karena resikonya yang lebih kecil. Selain madu, lebah trigona mampu menghasilkan bahan lain seperti polen dan propolis yang mempunyai banyak manfaat. Meningkatnya usaha budidaya lebah trigona disebabkan juga karena harga jual madu trigona yang lebih tinggi. Nilai jual tinggi ini didukung dengan berbagai studi literatur akan manfaat dan komponen bioaktif yang dikandungnya. Hasil samping perasan madu trigona yang terdiri dari *wax* yang bercampur dengan propolis juga diketahui memiliki banyak manfaat. Propolis memiliki nilai ekonomis tinggi. Propolis atau lem lebah, yaitu zat yang dihasilkan oleh lebah yang berfungsi untuk menambal dan mensterilkan sarang lebah (Anjum *et al.* 2019).

Propolis mengandung berbagai komponen bioaktif. Bioaktif yang terkandung dalam propolis didominasi oleh flavonoid, dengan kadar hampir 50%. Hasil uji fitokimia (Afata *et al.* 2022) menunjukkan bahwa ekstrak propolis mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid dan minyak atsiri. Penggunaan propolis dari sisa perasan madu trigona masih sangat jarang dilakukan. Peternak lebah trigona biasanya akan membuang sisa hasil perasan madu atau dibiarkan menumpuk begitu saja. Hal ini disebabkan kondisi asal propolis bercampur dengan lilin lebah yang membentuk sarang dan menyelimuti madu lebah trigona. Konsumsi propolis yang masih bercampur lilin dapat menimbulkan masalah pencernaan, sehingga jarang dikonsumsi langsung.

Propolis yang banyak dikonsumsi dan mempunyai nilai jual tinggi adalah propolis hasil ekstraksi yang telah dipisahkan dari komponen lain yang mengganggu seperti lilin. Proses ekstraksi sederhana yang dapat dilakukan adalah dengan proses perebusan. Panas akan menyebabkan lilin mencair dan propolis yang ada pada lilin terlarut di dalam air. Saat proses pendinginan, lilin akan memadat kembali sehingga bisa dipisahkan dari air yang tercampur dengan propolis. Hanya saja, penggunaan panas berlebih pada metode ini dikhawatirkan akan merusak sebagian senyawa bioaktif penting pada propolis. Metode lainnya yang dapat dilakukan untuk ekstraksi propolis adalah dengan ekstraksi menggunakan pelarut organik. Hanya saja, proses ekstraksi ini membutuhkan biaya yang mahal dan peralatan yang sulit untuk memastikan propolis yang dihasilkan benar benar aman dikonsumsi dan tidak mengandung residu pelarut yang digunakan. Alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan pelarut air yang aman dan murah. Optimasi proses ekstraksi dengan air ini dapat dikombinasikan dengan berbagai metode ekstraksi seperti maserasi dingin, infundasi dengan kontrol suhu, menggunakan gelombang suara, *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), hingga penggunaan gelombang *Microwave Assisted Extraction* (MAE) untuk membantu mengeluarkan propolis dari matriks campurannya dengan lilin. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan proses ekstraksi menggunakan UAE 90 menit dan MAE 3 menit dengan pelarut air mampu menghasilkan ekstrak dengan komponen bioaktif yang diinginkan.

Penelitian mengenai metode optimasi proses ekstraksi propolis lebah trigona menggunakan pelarut air perlu dilakukan. Hasil ekstraksi ini nantinya dapat dikonsumsi langsung atau dapat lebih mudah diaplikasikan untuk menghasilkan berbagai produk makanan atau minuman fungsional seperti jamu dan lainnya yang dapat meningkatkan keamanan maupun masa simpan produk karna kandungan senyawa bioaktifnya juga dapat berperan sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan ekstraksi propolis yang optimal dengan menggunakan pelarut air dipadukan dengan metode ekstraksi maserasi dingin, maserasi panas (suhu 60°C), *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain limbah perasan madu trigona yang diperoleh dari peternakan lebah madu trigona yang ada di wilayah Suranadi, propolis komersil merek Melia, medium *Nutrient Agar* (NA), medium *Nutrient Broth* (NB) FeCl<sub>3</sub>, serbuk Mg, HCl, Gelatin, n-Heksan, Asam Asetat Anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, Reagen Dagendrof, Reagen Mayer, Reagen Wegner, DPPH, Metanol, kultur bakteri uji, larutan *buffer phosphate*, aquades, alkohol 96%, dan *methylene blue*.

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Spektrofotometer UV-Vis merk Thermoscientific/Evolution 201 local control, laminar flow*, autoklaf, pisau dan sendok stainless steel, piring, nampan, erlenmeyer, *hot plate*, gelas ukur, pipet volume, pipet mikro, pipet tetes, inkubator, *blue tip, yellow tip, vortex*, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, lampu bunsen, korek api, *waterbath*, pH meter, pengaduk, *stopwatch*, termometer, drigalski, gelas piala, lap, tisu, masker, sarung tangan, oven, kompor gas, dan kertas label.

### Metode

Metode eksperimental pada penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan percobaan faktor tunggal yaitu metode ekstraksi dengan 5 perlakuan yang nantinya beberapa parameter juga akan dibandingkan dengan kontrol (maserasi 24 jam dengan pelarut organik etanol 70%) dan propolis komersial. Perlakuan yang dilakukan seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan penelitian

Perlakuan	Metode Ekstraksi
T0 (Kontrol Pelarut Organik)	Maserasi
T1	Maserasi (suhu ruang, T 24 Jam)
T2	Maserasi (suhu 60 °C, T 24 Jam)
T3	UAE (amplitudo 50%, T 25 menit)
T4	MAE (180 watt, 3x1 menit)
T5	Perebusan (5 menit)
T6 (Kontrol propolis komersial sesuai aturan pakai di kemasan)	2 tetes dilarutkan dalam 240 ml air

### Tahap Persiapan Ekstrak

Sebanyak 100 gram limbah perasan madu trigona dicampurkan dengan pelarut akuades steril dengan perbandingan 1:5. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi berdasarkan jenis metode ekstraksi yang digunakan dan dilanjutkan dengan penyaringan. Selanjutnya dilakukan analisa.

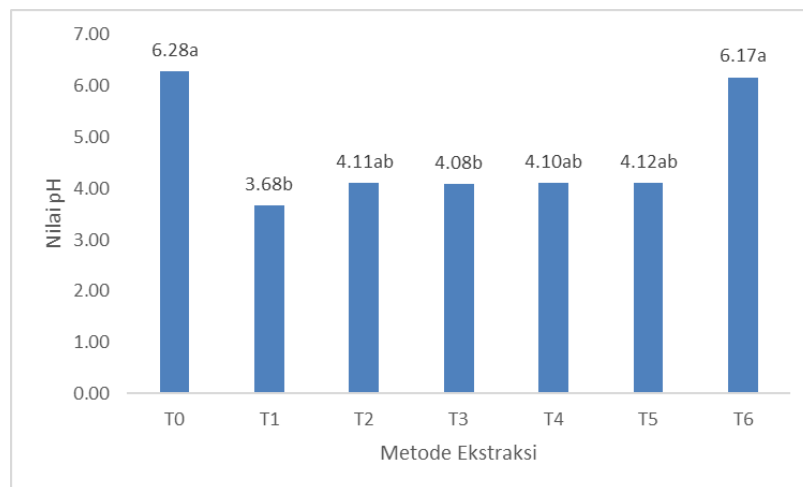
### Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu pH (Modifikasi SNI 6989.11:2019). Skrining fitokimia pada ekstrak propolis dilakukan berdasarkan Khairunnisa *et al.* (2020). Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak dilakukan dengan metode DPPH berdasarkan Prasetyo *et al.* (2021). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan melihat zona hambat bakteri uji menggunakan metode sumuran (Jagessar, 2008). Uji warna secara fisik dilakukan dengan menggunakan alat colorimeter (*MSEZ User Manual*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Nilai pH

Nilai pH propolis hasil berbagai metode ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 1. Propolis hasil metode ekstraksi maserasi suhu ruang memiliki pH yang paling rendah. Meskipun demikian, secara keseluruhan nilai pH propolis yang diperoleh dari berbagai metode ekstraksi tidak berbeda jauh, yakni berkisar 3,68 sampai 4,12. pH propolis yang diperoleh seluruhnya termasuk dalam kisaran pH asam. Hasil penelitian Usman *et al.* (2016) juga menunjukkan hal serupa. pH propolis trigona yang diekstrak dengan pelarut air dengan metode perebusan senilai 4. Hal berbeda ditunjukkan pada ekstrak pelarut organik dan propolis komersial yang memiliki pH di atas 6. Kesamaan nilai pH antara ekstrak pelarut organik dengan propolis komersil disebabkan propolis komersil pada umumnya juga diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut organik. Proses ekstraksi menggunakan pelarut organik akan mengekstrak komponen bioaktif yang lebih beragam. Hasil analisis komponen propolis trigona menggunakan gas kromatografi spektroskopi masa menunjukkan pelarut organik mampu menghasilkan 25 jenis komponen bioaktif sedangkan pelarut air hanya 12. Disebutkan juga komponen volatil lebih banyak terekstrak dengan pelarut etanol (Usman *et al.*,2016). Variasi komponen yang makin beragam juga dapat mempengaruhi pH ekstrak yang dihasilkan.



Gambar 1. Nilai pH ekstrak propolis dengan berbagai metode ekstraksi

### Skrining Tes Fitokimia

Proses ekstraksi akan mempengaruhi senyawa fitokimia yang terekstrak. Skrining keberadaan senyawa fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung pada ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan propolis yang diekstrak dengan metode maserasi dengan suhu 60 °C, UAE, MAE serta perebusan menunjukkan ekstrak positif mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid serta steroid dan fenolik (Tabel 2). Hasil ini sesuai dengan penelitian Khairunnisa *et al.* (2020) didapatkan hasil uji kualitatif propolis trigona yang diekstrak dengan pelarut air, etanol, dan metanol positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan tanin. Hasil uji kuantitatif menunjukkan kandungan flavonoid total ekstrak dengan pelarut metanol, etanol, dan air secara berurutan adalah 0,15%; 0,04%; dan 0,17%. Kandungan fenol total ekstrak dengan pelarut metanol, etanol, dan air secara berurutan adalah 0,54%; 0,38%; dan 0,39%.

Tabel 2. Skrining tes Fitokimia ekstrak propolis dengan berbagai metode ekstraksi

No	Senyawa Fitokimia	T1	T2	T3	T4	T5
1	Alkaloid	+	+	+	+	+
2	Flavonoid	+	+	+	+	+
3	Triterpenoid dan steroid	+	+	+	+	+
4	Fenolik	-	+	+	+	+

Hasil skrining proses maserasi air pada suhu ruang menunjukkan bahwa tidak terdapat senyawa fenolik pada ekstrak. Hal ini disebabkan karena air belum mampu secara sempurna memecah matriks selaput pembungkus madu yang terdiri dari wax atau senyawa lilin. Wax diketahui bersifat hidrofobik, sehingga menyulitkan komponen air bercampur memasuki matriks.

### Aktivitas Antimikroba

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak propolis dengan berbagai metode ekstraksi menggunakan pelarut air disajikan pada Tabel 3. Bakteri yang digunakan adalah *E. coli* dan *S. aureus*. Dari hasil uji aktivitas antibakteri terlihat bahwa setiap ekstrak memiliki zona hambat yang berbeda-beda untuk bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*, kecuali pada ekstrak propolis maserasi suhu 60°C dan propolis komersial yang sama sekali tidak menunjukkan zona hambat terhadap kedua bakteri uji. Tidak adanya zona hambat yang diberikan oleh propolis komersial kemungkinan disebabkan oleh rendahnya konsentrasi propolis komersial yang digunakan saat pengujian. Sampel propolis komersial sebanyak 2 tetes dicampur dengan air 240 mL, baru selanjutnya diteteskan ke dalam media sumuran yang sudah diinokulasi dengan bakteri uji.

Tabel 3. Zona Hambat Ekstrak Propolis terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
T0	1,5	3
T1	0	2,5
T2	0	0
T3	1	2
T4	1	0
T5	0,75	0
T6	0	0

Beberapa ekstrak menunjukkan zona hambat untuk 1 jenis bakteri tetapi tidak untuk jenis lainnya. Hasil penelitian ini memperlihatkan zona penghambatan yang lebih besar dimiliki oleh ekstrak pelarut organik dibandingkan semua sampel ekstrak air yang digunakan terhadap kedua jenis bakteri uji. Hal ini dapat disebabkan komposisi kimia yang diperoleh dari ekstrak alkohol dan ekstrak air juga berbeda karena proses ekstraksinya berbeda sehingga efektivitas antibakterinya pun berbeda. Flavonoid yang merupakan komponen utama penyusun propolis adalah sejumlah besar senyawa fenolik yang lebih mudah diekstrak dengan pelarut alkohol (Mello *et al.*, 2010). Hal ini juga didukung oleh penelitian Usman (2016) yang menunjukkan total fenolik yang diperoleh penggunaan pelarut organik etanol lebih dari 5 kali lebih besar dibandingkan dengan pelarut air, sedangkan total flavonoidnya 2 kali lebih besar dibandingkan penggunaan pelarut air.

### Warna

Warna diperoleh dari pemantulan spectrum cahaya oleh benda yang selanjutnya ditangkap oleh mata sebagai indra pengelihatan, dan kemudian akan diterjemahkan sebagai sebuah warna tertentu oleh otak. Warna merupakan salah satu komponen penting yang menentukan mutu produk pangan. Peran

penting warna tersebut sangat erat kaitannya dengan daya tarik konsumen terhadap produk. Salah satu metode pengukuran warna adalah dengan mengukur nilai L, a, b seperti disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai L, a, b ekstrak propolis hasil berbagai metode ekstraksi

Perlakuan	Nilai L	Nilai a	Nilai b
T0	22,06	5,04	12,73
T1	72,6	-0,32	15,77
T2	40,31	16,13	32,67
T3	41,94	9	16,9
T4	47,8	12,78	30,41
T5	63,21	6,08	38,22
T6	30,39	3,54	18,12

Nilai L menggambarkan kecerahan warna produk. Dari Tabel 4 terlihat propolis hasil ekstraksi dengan metode maserasi pada suhu ruang memiliki nilai kecerahan yang paling tinggi dibandingkan dengan propolis dari metode ekstraksi lainnya. Hal ini terlihat dari nilai L yang paling tinggi yakni 72,6. Propolis dengan kecerahan warna paling rendah dimiliki oleh propolis hasil ekstraksi dengan metode maserasi suhu 60°C. Nilai a menggambarkan warna kromatik campuran merah dan hijau. Nilai a positif menunjukkan koordinat derajat kemerahan yang lebih dominan, sedangkan nilai a negatif menunjukkan koordinat derajat kehijauan yang lebih dominan. Nilai a semua propolis bertanda positif kecuali pada propolis hasil ekstraksi dengan maserasi pada suhu ruang. Nilai b positif menunjukkan koordinat derajat kekuningan yang lebih dominan, sedangkan nilai b negatif menunjukkan koordinat derajat kebiruan yang lebih dominan. Propolis yang memiliki warna paling kuning adalah hasil ekstraksi metode perebusan, dan diikuti dengan propolis hasil ekstraksi metode maserasi pada suhu 60°C. Warna merah yang paling kuat diperoleh pada propolis hasil ekstraksi metode maserasi suhu 60°C, dan diikuti propolis metode MAE. Warna merah cenderung ke arah coklat gelap diperlihatkan oleh hasil ekstrak dengan menggunakan metode MAE. Warna propolis sangat berhubungan dengan kadar flavonoid yang terkandung dalam propolis sehingga semakin gelap propolis maka akan semakin tinggi juga kandungan flavonoid di propolis tersebut (Woo, 2004).

### Antioksidan

Aktivitas antioksidan propolis diuji dengan metode DPPH (Molyneux, 2004). Prinsip pengujian aktivitas antioksidan tersebut adalah reaksi yang terjadi pada senyawa antioksidan yang terkandung pada sampel untuk mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal bebas stabil DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Aktivitas antioksidan pada sampel akan ditunjukkan dengan tereduksinya senyawa DPPH menjadi DPPH-H. Reduksi senyawa ini akan terlihat dari terjadinya perubahan warna reagen ungu menjadi kuning. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan parameter IC50, yaitu konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% senyawa DPPH. Nilai IC50 yang semakin kecil menandakan semakin kuat aktivitas senyawa antioksidannya dalam menangkal radikal bebas (Rumayati *et al.*, 2014). Hasil uji aktivitas antioksidan sampel propolis dengan berbagai metode ekstraksi disajikan pada Tabel 5.

Hasil uji aktivitas antioksidan pada Tabel 5 menunjukkan berbagai metode ekstraksi tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan antioksidan yang diperoleh. Hasil antioksidan tertinggi ditunjukkan dengan nilai IC 50 terendah. Nilai antioksidan tertinggi ditunjukkan pada perlakuan maserasi 24 jam dengan suhu 60°C dan diikuti perlakuan MAE.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Propolis

Metode Ekstraksi	IC <sub>50</sub>
T0	8,50 <sup>a</sup>
T1	7,73 <sup>a</sup>
T2	5,88 <sup>a</sup>
T3	6,65 <sup>a</sup>
T4	6,32 <sup>a</sup>
T5	7,27 <sup>a</sup>
T6	7,30 <sup>a</sup>

Metode ekstraksi propolis dengan menggunakan perlakuan di atas suhu ruang menunjukkan hasil aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi pada suhu ruang. Hal ini dikarenakan panas yang digunakan mampu memecah membran dan menarik komponen bioaktif keluar dari bahan yang diekstrak. Meskipun demikian, suhu ekstraksi propolis yang terlalu tinggi diketahui justru dapat menurunkan aktivitas antioksidan karena terjadi kerusakan pada senyawa-senyawa antioksidan yang dikandung. Proses ekstraksi menggunakan gelombang mikro dengan waktu yang singkat juga akan menghasilkan panas yang tidak terlampaui tinggi. Suhu pemanasan optimum untuk menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi diketahui adalah 60°C (Kurniati *et al.*, 2019).

Senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan yang banyak ditemukan pada sampel propolis. Senyawa fenolik umumnya memiliki rentang suhu 0-90°C (Putri *et al.*, 2014). Hampir sebagian besar senyawa fenolik akan mengalami kerusakan ketika dipanaskan di atas suhu 85°C dengan waktu pemanasan lebih dari 5 menit. Dengan demikian, pengaturan suhu dan waktu ekstraksi merupakan hal yang esensial untuk memperoleh propolis dengan aktivitas antioksidan yang tinggi (Dewata *et al.*, 2017). Hal ini sejalan dengan hasil uji aktivitas antioksidan sampel propolis pada penelitian ini. Penggunaan microwave memberikan keuntungan karena penggunaan waktunya yang relatif singkat. Hal tersebut memberikan dampak terhadap kondisi kandungan senyawa antioksidan, terutama kemungkinan kerusakan senyawa-senyawa fenolik selama ekstraksi menggunakan suhu yang tinggi (Rismawati & Ismiyati, 2017; Khairunnisa *et al.*, 2020; Rosana *et al.*, 2021).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstraksi propolis dari limbah perasan madu trigona menggunakan pelarut air terbaik dilakukan dengan proses ekstraksi menggunakan MAE. Proses ekstraksi menggunakan *microwave* menggunakan waktu yang sangat singkat dan tidak membutuhkan panas yang tinggi. Hal ini dapat menjaga kandungan antioksidan yang terdapat pada ekstrak. Selain itu, juga dapat diketahui ekstrak dengan metode ini mampu menangkap komponen bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid serta steroid dan fenolik. Senyawa ini juga nantinya berperan sebagai agen antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba *E. Coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afata, T.K., Nemo, R., Ishete, N., Tucho, G.T., & Dekebo, A. 2022. Phytochemical investigation, physicochemical characterization, and antimicrobial activities of Ethiopian propolis. *Arabian Journal of Chemistry* 15(7):1-9.
- Anjum, S.I., Ullah, A., Khan, K.A., Attaulla, M., Khan, H., Ali, H. et al. 2019. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26:1695-1703.

- Dewata, I. P., Wipradnyadewi, P. A. S., & Widarta, I. W. R. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Penyeduhan terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sifat Sensoris Teh Herbal Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal ITEPA* 6(2): 30-39.
- Jagessar, R. 2008. Selective Antimicrobial Properties of *Phyllanthusacidus* Leaf Extract Against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* Using Strokes Disc Diffusion, Well Diffusion, Streak Plate and a Dilution Method. *Nature and Science* 2(6): 24-38.
- Khairunnisa, K., Mardawati, E., & Putri, S. H. 2020. Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis Lebah *Trigona Sp.* *Jurnal Industri Pertanian* 2(1): 124-129.
- Kurniati, D., Arifin, H. R., Ciptaningtyas, D., & Windarningsih, F. 2019. Kajian Pengaruh Pemanasan terhadap Aktivitas Antioksidan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Alternatif Sumber Pangan Fungsional. *Jurnal Teknologi Pangan* 3(1): 20-25.
- Mello, B. C. B. S., Petrus, J. C. C., & Hubinger, M. D. 2010. Concentration of Flavonoids and Phenolic Compounds in Aqueous and Ethanolic Propolis Extracts Through Nanofiltration. *Journal of Food Engineering* 96(4): 533-539.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Prasetyo, E., Kharomah, N.Z.W., Rahayu, T.P. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience* 8(1):75-82.
- Putri, D. D., Nurmagustina, D. E., & Chandra, A. A. 2014. Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antibakteri Kelopak Buah Rosela Merah dan Ungu sebagai Kandidat *Feed Additive* Alami pada *Broiler*. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 14(3): 174-180.
- Rismawati, S. N., & Ismiyati. 2017. Pengaruh Variasi pH terhadap Kadar Flavonoid pada Ekstraksi Propolis dan Karakterisasinya sebagai Antimikroba. *Jurnal Konversi* 6(2): 89-94.
- Rosana, M., Ahwan, & Qonitah, F. 2021. Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis. *LUMBUNG FARMASI: Jurnal Ilmu Kefarmasian* 2(2): 154-157.
- Rumayati, Idiawati, N., & Destiarti, L. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan, Total Fenol, dan Toksisitas dari Ekstrak Daun dan Batang Lakum (*Cayratia trifolia* (L) Domin). *Jurnal Kimia Katulistiwa* 3(3): 30-35.
- Usman, UZ., Bakar, ABA., Mohamed & M. 2016. Phytochemical Screening and Comparison of Antioxidant Activity of Water and Ethanol Extract Propolis From Malaysia. *Int J Pharm Sci* 8(5): 413 415.
- Woo, K. S. 2004. *Use of Bee Venom and Propolis for Apitherapy in Korea*. On: Camaya EN, Cervancia C. (eds.). Proceeding of the 7<sup>th</sup> Asian Apicultural Association Conference and 10<sup>th</sup> BEENET Symposium and Technofora; Los Banos, Univ. of the Philippines. Laguna: UPLB-BP, College, Laguna (Philippines).