

## Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Dari Propolis Lebah Kelulut *Heterotrigona Itama* Asal Kutai Kartanegara

Veggy Nadia Yuliawan <sup>a, 1</sup>, Abdul Aziz <sup>a, 2</sup>, Paula Mariana Kustiawan <sup>a, 3\*</sup>

<sup>a</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, Samarinda, 75124

<sup>1</sup>Veggynadia8@gmail.com; <sup>2</sup>Bawazierabdulaziz@gmail.com; <sup>3</sup>pmk195@umkt.ac.id\*

\*korespondensi penulis

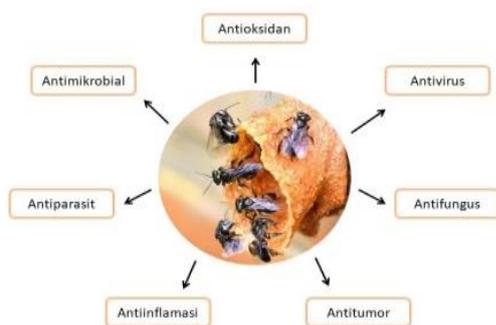
INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Diterima : 22-07-2021 Direvisi : 24-07-2021 Disetujui : 25-07-2021</p> <p><b>Kata kunci:</b> Fitokimia; Fraksi etil asetat; <i>Heterotrigona itama</i>; Propolis.</p> <p><b>Key word:</b> Phytochemical; Ethyl acetate fraction; <i>Heterotrigona itama</i> ; Propolis.</p>	<p>Propolis merupakan salah satu produk dikumpulkan lebah dari getah pohon dan pada umumnya memiliki warna coklat kehitaman yang digunakan pada permukaan luar sarang untuk menghindari predator luar. Produk lebah kelulut jenis <i>Heterotrigona itama</i> digunakan oleh masyarakat sebagai upaya preventif dan pengobatan. Jenis ini juga menghasilkan propolis dengan jumlah lebih banyak dibandingkan jenis lebah bersengat, namun potensinya masih belum banyak dieksplorasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia fraksi etil asetat propolis lebah kelulut jenis <i>H. itama</i> asal Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Sampel propolis diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% dan diuapkan untuk menghasilkan ekstrak etanol propolis. Kemudian dilakukan partisi cair-cair mendapatkan fraksi etil asetat. Setelah mendapatkan fraksi etil asetat, penelitian dilanjutkan dengan uji fitokimia secara kualitatif dan pengukuran kandungan total fenolik. Hasil analisa fitokimia menunjukkan fraksi etil asetat dari propolis lebah kelulut mengandung alkaloid, triterpenoid, saponin dan senyawa fenol. Pengukuran kandungan total fenolik menunjukkan fraksi etil asetat memiliki kandungan fenolik 812 mg GAE/100g. Dapat disimpulkan kandungan senyawa dan total fenolik pada fraksi etil asetat propolis <i>H. itama</i> dari Kutai Kartanegara dipengaruhi oleh lingkungan sekitar peternakan tersebut.</p> <p>ABSTRACT</p> <p>Propolis is one of the products collected by bees from tree sap and generally has a blackish brown color that is used on the outer surface of the hive to avoid outside predators. The product of <i>Heterotrigona itama</i> bee is used by the community as a preventive and treatment effort. This species also produces propolis more than stinging bees, but its potential has not been explored much. The purpose of this study was to determine the phytochemical content of the ethyl acetate fraction of the <i>H. itama</i> propolis from Kutai Kartanegara, East Kalimantan. The propolis sample was extracted with 96% ethanol and evaporated to produce propolis ethanol extract. Then the liquid-liquid partition was carried out to obtain the ethyl acetate fraction. This continued with qualitative phytochemical tests and measurements of total phenolics. The results of phytochemical analysis showed that the ethyl acetate fraction of propolis contained alkaloids, triterpenoids, saponins and phenolic content. The ethyl acetate fraction had total phenolic content 812 mg GAE/100g. It can be concluded that the compound and total phenolic content in the ethyl acetate fraction of <i>H. itama</i> propolis from Kutai Kartanegara influenced by the environment around the apiary.</p> <p>This is an open access article under the <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/">CC-BY-SA</a> license.</p>



## Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman flora dan faunanya, salah satu fauna yang banyak terdapat di Indonesia adalah lebah. Ada berbagai macam jenis lebah yang tinggal di hutan Indonesia, dari lebah yang bersengat hingga yang tidak bersengat (Rasmussen & Gonzalez, 2017). Salah satu lebah tidak bersengat yaitu lebah kelulut. Lebah kelulut atau yang biasa disebut sebagai lebah klanceng adalah lebah yang memiliki perbedaan signifikan pada tubuh maupun hasil produknya. Lebah kelulut tidak memiliki ekor atau sengat pada bagian belakang tubuhnya (*stingless bee*), berwarna hitam pekat seperti lalat, lebih banyak mengambil getah dari pohon buah-buahan, menghasilkan madu yang memiliki rasa asam serta memproduksi propolis lebih banyak dari jenis lebah lainnya. Salah satu jenis lebah kelulut adalah *Heterotrigona itama* yang sekarang mulai dikembangkan oleh masyarakat untuk dimanfaatkan propolisnya sebagai upaya preventif dan pengobatan (Haryanto *et al.*, 2012).

Propolis merupakan hasil dari olahan getah pohon yang kemudian digunakan untuk melindungi sarang lebah dari predator luar. Senyawa yang terkandung di dalam propolis seperti senyawa-senyawa polifenol, terpenoid, steroid, asam amino dan vitamin. Adanya senyawa-senyawa tersebut menandakan propolis memiliki berbagai aktivitas (Gambar 1.) seperti antioksidan, antibakteri, antivirus, antiinflamasi, dan antitumor (Alencar *et al.*, 2007; Orsi *et al.*, 2005).



**Gambar 1.** Berbagai potensi bioaktivitas propolis

Propolis juga memiliki potensi aktivitas sebagai antiparasit (Paula *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2021). Propolis juga mempunyai potensi sebagai produk antiinflamasi alami yang alami, efek samping dan toksik yang rendah, serta terjangkau (Kubat *et al.*, 2021)

Kandungan propolis memiliki perbedaan berdasarkan jenis pohon sumber getah, suhu, wilayah dan keadaan sekitar peternakan lebah. Dari beberapa

penelitian propolis yang telah ada, ditemukan beberapa faktor penentu yang mempengaruhi kualitas propolis tersebut salah satunya lokasi dan lingkungan yang memberikan peran penting dalam kualitasnya (Hirmarizqi *et al.*, 2019). Pada penelitian ini peneliti melakukan penelitian dengan sampel propolis dari Kutai Kartanegara.

Kutai Kartanegara merupakan salah satu Kabupaten yang terkenal akan sumber energi di daerah nya. Salah satunya adalah PLTGU (Pembangkit Listrik Tenaga Gas dan Uap) yaitu suatu pusat pembangkit listrik yang menggunakan tenaga uap sebagai penggerak utama turbin untuk menghasilkan tenaga listrik yang memiliki produk sampingan berupa air pendingin (Hutomo & Arinardi, 1992). Masyarakat sekitar PLTGU, Kutai Kartanegara mulai mengembangkan usaha peternakan lebah kelulut sebagai alternatif pendapatan di masa pandemi COVID-19. Dengan lokasi yang strategis dan keadaan yang mendukung, masyarakat melihat adanya peluang untuk mengembangkan lebah kelulut karena daerah perumahan tersebut dikelilingi banyak pohon buah-buahan sehingga lebah kelulut dapat memperoleh getah yang kemudian diolah menjadi propolis (Istikowati *et al.*, 2019). Namun keberadaan PLTGU disekitar ternak lebah tersebut menjadi pertimbangan apakah dapat mempengaruhi kandungan senyawa pada propolis atau tidak.

Sehingga dilakukanlah penelitian ini untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dari propolis asal Kutai Kartanegara tersebut menggunakan fraksinasi dengan pelarut semipolar, yaitu etil asetat.

## Metode

### Pengumpulan sampel

Sampel propolis mentah diambil dari peternakan lebah kelulut di Desa Tanjung Batu, Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur pada bulan Februari 2021. Jenis lebah diidentifikasi di Laboratorium Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman dan disimpan sebagai spesimen.

### Ekstraksi

Sebelum di ekstrak, propolis yang masih segar dibekukan dalam freezer pada suhu  $-4^{\circ}\text{C}$ . Setelah itu sampel yang sudah beku dihaluskan dengan bantuan blender hingga menjadi serbuk, hal ini harus dilakukan dengan cepat dan sedikit demi sedikit karena propolis mudah lembek ketika berada disuhu ruang sehingga akan susah untuk diblender. Setelah menjadi serbuk, sampel direndam menggunakan etanol 96%, diaduk dan didiamkan selama 1x24 jam sebanyak 4 kali. Hasil penyaringan propolis

kemudian diuapkan diatas waterbath sampai menjadi ekstrak kental.

### Fraksinasi

Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan metode ekstraksi (Pramono & Puspitasari, 2015) dengan modifikasi. Ekstrak etanol propolis dilarutkan terlebih dahulu dengan etanol sebanyak 50 ml dan dimasukkan kedalam corong pisah, dan dilakukan fraksinasi bertingkat dengan pelarut non polar terlebih dahulu. Kemudian filtrat etanol dilarutkan menggunakan aquades lalu dimasukkan kedalam corong pisah, ditambahkan etil asetat dan gojok selama 1 menit lalu diamkan hingga terbagi menjadi dua fase. Setelah terpisah, filtrat fraksi etil asetat dikeluarkan dari corong pisah dan dilakukan pengulangan sebanyak 3x. Kemudian filtrat fraksi etil asetat tersebut diuapkan untuk mendapatkan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat inilah yang akan dilakukan uji fitokimia.

### Uji Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan dengan metode kualitatif berdasarkan perubahan warna (Khairunnisa *et al.*, 2020).

Uji Alkloid – diambil fraksi etil asetat sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 ml HCL pekat dan 1 ml larutan dragendorf. Adanya perubahan warna menjadi jingga atau merah menandakan bahwa fraksi mengandung senyawa alkaloid.

Uji Flavonoid – diambil fraksi etil asetat 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl<sub>3</sub>. Adanya perubahan warna menjadi kuning, merah, atau coklat menandakan adanya senyawa flavonoid.

Uji Steroid/Triterpenoid – diambil fraksi etil asetat sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan kloroform 0,5 ml. Kemudian tambahkan beberapa tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat pada sisi tabung. Jika terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerahan diantara permukaan maka mengindikasikan adanya senyawa triterpenoid, tetapi jika lapisan atas berwarna merah dan lapisan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> berwarna kuning kehijauan maka mengindikasikan adanya senyawa steroid.

Uji Tanin – diambil fraksi etil asetat 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes larutan pb 1%. Jika terdapat endapan kuning pada tabung menandakan adanya senyawa tanin.

Uji Saponin – diambil fraksi etil asetat sebanyak 1 ml tambahkan 2 ml aquades kemudian direbus selama 10 menit. Saring campuran tersebut menggunakan kerta saring lalu masukkan kedalam

erlenmeyer, tambahkan aquades hingga 10 ml lalu kocok selama 2 menit. Jika campuran tersebut menghasilkan buih maka mengindikasikan adanya senyawa saponin.

### Uji Kandungan Fenolik Total

Diambil fraksi sampel sebanyak 500µg/ml larutan sampel dan masukkan kedalam labu ukur 10 ml, tambahkan 0,5 ml reagen Follin-Ciocalteu, kocok pelan dan inkubasi selama 8 menit. Tambahkan 3 ml Natrium Karbonat kocok hingga dan tambahkan aquades hingga tanda 10 ml kemudian kocok hingga homogen. Inkubasi selama 2 jam ditempat yang gelap, lalu ukur absorbansinya di spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 767 nm (Ahmad *et al.*, 2015).

### Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi awal propolis menghasilkan 75,36 ekstrak etanol 98%. Setelah dilakukan fraksinasi dari 10 gram ekstrak etanol propolis menghasilkan 4,2 gram fraksi etil asetat. Karakteristik fraksi etil asetat berwarna merah kecokelatan. Fraksi tersebut dilanjutkan pengujian fitokimia dan kandungan fenolik totalnya. Hasil uji fitokimia tersebut dapat dilihat secara kualitatif perubahan warnanya pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Perubahan warna saat pengujian fitokimia fraksi etil asetat propolis. Keterangan : EA : Fraksi Etil Asetat (kontrol), 1 : alkaloid (+), 2 : flavanoid (-), 3 : , 4: tanin (-) , 5: saponin(+)

Fraksi etil asetat pada pengujian fitokimia dinyatakan positif mengandung alkaloid setelah terjadi perubahan warna dari sampel awal yang berwarna orange bening hanya menjadi orange yang sedikit keruh dengan endapan. Hal tersebut dikarenakan, senyawa alkaloid akan bereaksi dengan nitrogen sehingga membentuk endapan (Harborne, 1987). Pada uji triterpenoid fraksi etil asetat propolis terjadi perubahan warna dari sampel awal yang berwarna orange bening menjadi coklat. Hal tersebut dikarenakan adanya proses esterifikasi senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat (Afif, 2013). Fraksi etil asetat juga mengandung saponin karena terbentuknya buih diberi perlakuan. Senyawa saponin memiliki aglikon glikosida berupa

sapogenin. Jika suatu sampel mengandung saponin akan diindikasikan dengan terbentuknya buih setelah dikocok, karena adanya penurunan tegangan permukaan (Dyck *et al.*, 2010). Sedangkan, uji flavonoid pada fraksi etil asetat propolis tidak terjadi perubahan warna merah-cokelat dan tidak menunjukkan adanya endapan pada uji tanin. Sehingga dinyatakan fraksi etil asetat propolis lebah kelulut dari Kutai Kartanegara tidak memiliki kandungan senyawa flavonoid dan tanin.

Uji fitokimia fraksi etil asetat dari propolis lebah kelulut *Heterotrigona itama* menunjukkan adanya senyawa alkaloid, triterpenoid dan saponin (Tabel 1.). Senyawa serupa juga diidentifikasi dari propolis adalah polifenol (flavonoid, asam fenolat dan esternya), terpenoid, steroid, asam amino, vitamin (A, C, E), mineral (Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu, dan Zn) (Bankov *et al.*, 2008; Kumazawa *et al.*, 2004)

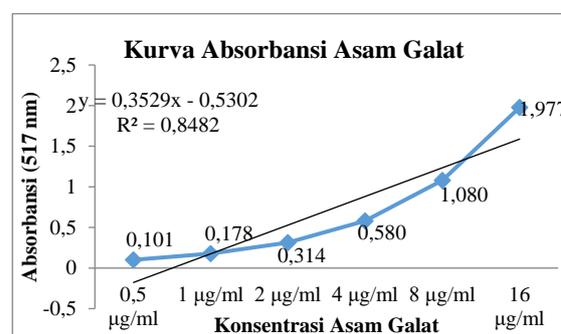
Tabel 1. Hasil analisis fitokimia

No.	Senyawa	Fraksi Etil asetat
1.	Alkaloid	+
2.	Flavonoid	-
3.	Steroid/triterpenoid	+
4.	Tanin	-
5.	Saponin	+

Adanya PLTGU di dekat peternakan lebah tidak mempengaruhi pohon-pohon yang ada disekitarnya, karena hasil gas dan uap yang dikeluarkan tidak mempengaruhi getah dari pohon-pohon tersebut sehingga getah pohon tidak terkontaminasi. Salah satu yang dapat menyebabkan adanya perbedaan hasil kandungan senyawa propolis adalah jenis pohon buah yang diambil getahnya. Tiap pohon memiliki kandungan senyawa yang berbeda, sehingga kandungan propolis juga akan berbeda mengikuti jenis pohon apa yang dominan berada di sekitar peternakan tersebut (Saepudin *et al.*, 2017). Suhu dan cuaca juga dapat mempengaruhi senyawa dari pohon sehingga getah yang dikeluarkan juga mempunyai kandungan yang berbeda.

Menurut (Rosyidi *et al.*, 2018), propolis lebah jenis *Apis* sp. memiliki senyawa-senyawa kimia yang sangat banyak dan berbeda-beda tergantung dari lingkungan di sekitar peternakan lebahnya sehingga terdapat perbedaan senyawa pada propolis yang ada di Indonesia dengan propolis yang berada di negara lainnya. Hal tersebut juga kemungkinan besar mempengaruhi senyawa yang akan didapatkan dari propolis. Menurut (Sabir, 2005), variasi senyawa pada propolis berhubungan erat dengan jenis dan usia pohon yang diambil getahnya untuk diolah menjadi propolis.

Hasil dari uji fenolik total menandakan bahwa propolis yang diambil dari perumahan PLTGU memiliki senyawa fenolik. Senyawa fenolik total diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode kolorimetri yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 767 nm. Absorbansi di ukur dengan senyawa standar asam galat dan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Nilai absorbansi yang didapatkan pada dua pengulangan berturut-turut adalah 0,903 dan 0,906 dengan rata-rata 0,904. Dari hasil tersebut dilakukan perhitungan fenolik total untuk mencari ekivalen asam galat dan didapatkan hasil 406 mgEAG/100g. Nilai y dari larutan asam galat didapatkan  $0.3529x - 0.5302$  dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva absorbansi asam galat

Kandungan fenolik total dari fraksi etil asetat didapatkan nilai 812 mgEAG/100g dan fenolik total ekstrak etanol 96% didapatkan nilai 550 mgEAG/100g dapat dilihat dalam Tabel 2.

Table 2. Hasil fenolik total

No.	Nama Sampel	Kandungan Fenolik Total
1.	Ekstrak Etanol 96%	550 mgEAG/100 g
2.	Fraksi Etil Asetat	812 mgEAG/100 g

Hasilnya kadar fenolik total pada ekstrak etanol 96% propolis lebih kecil dibandingkan kadar fenolik total fraksi etil asetat. Pelarut yang paling efektif dalam mengekstrak senyawa fenolik adalah etil asetat. Hal ini kemungkinan dikarenakan propolis *H. itama* memiliki rantai hidrokarbon yang panjang sehingga dapat terlarut dengan baik didalam pelarut semi polar seperti etil asetat (Do *et al.*, 2014). Pelarut etil asetat memiliki spektrum penyarian senyawa dari polar hingga nonpolar. Flavonoid tidak terdeteksi pada fraksi etil asetat, kemungkinan karena flavonoid adalah senyawa dengan gugus hidroksi yang tidak tersubstitusi sehingga bersifat lebih polar (Akbar,

2010). Jika dilihat kandungan fenolik fraksi etil asetat propolis *H. itama* lebih besar daripada ekstrak etanol 96%, ini menunjukkan adanya senyawa fenolik lain yang tidak termasuk golongan flavonoid.

Pemilihan pelarut tersebut sebaiknya menjadi pertimbangan penting ketika melakukan eksplorasi senyawa bahan alam. Perbedaan warna pada larutan uji fenolik total dari sampel fraksi etil asetat dan ekstrak etanol 96% dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Uji fenolik total fraksi etil asetat dan ekstrak etanol 96%

Berbeda halnya kandungan fenolik propolis yang didapatkan Thailand sebesar 12,54 – 70,04 mg EAG/g (Aumcharoen & Phankaew, 2016). Sedangkan kandungan fenolik propolis juga berbeda di beberapa negara seperti wilayah Korea Selatan (48,5-238,9 mg EAG/g), Australia ( $142,4 \pm 3,61$  mg EAG/g), Brazil ( $26,8 \pm 4,12$  mg EAG/g) dan China ( $132,1 \pm 3,28$  mg EAG/g) (Wang *et al.*, 2016). Hal ini menunjukkan habitat lebah akan mempengaruhi senyawa yang dihasilkan dari produk lebah tersebut.

Pengaruh iklim di lokasi sekitar peternakan lebah juga dapat mempengaruhi komposisi senyawa dari propolis (Dabija & Eremia, 2008; Mountford-McAuley *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2016). Lokasi pengambilan sampel juga mempengaruhi makro dan mikronutrisi kandungan propolis (Mulyati *et al.*, 2021) Sampel propolis Kutai Kartanegara yang diambil pada bulan Februari dan curah hujan tinggi saat itu kemungkinan mempengaruhi kandungan senyawa dan kandungan fenolik total yang ada. Kondisi iklim mempengaruhi pertumbuhan dan pembungaan tumbuhan sumber pakan lebah tersebut.

## Simpulan dan Saran

Kesimpulan dari penelitian fraksi etil asetat propolis lebah kelulut yang berasal dari Kutai Kartanegara mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan fenolik total lebih rendah dari ekstrak awalnya. Keberadaan PLTGU di sekitar peternakan lebah kelulut tidak secara langsung mempengaruhi tumbuhan yang hidup di sekitarnya. Variasi vegetasi bergetah yang tumbuh di sekitar dan

kondisi iklim yang kemungkinan besar mempengaruhi senyawa propolis *H. itama* tersebut.

Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui potensi propolis dari fraksi berbeda dan kemungkinan menjadi sebuah produk makanan, minuman, kosmetik, maupun obat-obatan.

## Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur atas dana penelitian Kolaborasi Dosen dan Mahasiswa (KDM).

## Daftar Pustaka

- Afif, S. (2013). *Ekstraksi Uji toksisitas dengan Metode BSLT dan Identifikasi Dari, Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (eucheuma Spinosum) Sains, perairan Sumenep Madura*. Jurusan Kimia Fakultas Ibrahim, dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Malang.
- Ahmad, A. R., Juwita, Ratulangi, Siti Afrianty Daniya, & Malik, A. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>
- Akbar, H. R. (2010). *Isolasi dan Daun, Identifikasi Golongan Flavonoid Nutans), Dandang Gendis (Clinacanthus (Skripsi), Berpotensi Sebagai Antioksidan*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Alencar, S. M., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., Rosalen, P. L., & Ikegaki, M. (2007). Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.005>
- Aumcharoen, W., & Phankaew, C. (2016). Antibacterial Activity and Phenolic Content of Propolis From Four Different Areas of Thailand. *Int J Pharm Pharm Sci Rev Res*, 37, 77–82.
- Bankov, V., Trusheva, B., & Popova, M. P. (2008). New Developments in Propolis Chemical Diversity Studies (since 2000). In N. Orsolich & I. Basic (Eds.), *Scientific Evidence of the Use of Propolis in Ethnomedicine* (pp. 1–13). Transworld Research Network.
- Dabija, T., & Eremia, N. (2008). The study of the amino acids in propolis composition. *Lucrări Științifice Zootehnie Și Biotehnoologie*, 41(2).

- <http://www.cabdirect.org/abstracts/20093303375.html>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Dyck, S. V., Gerbaux, P., & Flammang, P. (2010). Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumbers from the Indian Ocean. *Marine Drugs*, 8(1), 173–189.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia Menganalisis, penentuan cara modern*. ITB.
- Haryanto, B., Hasan, Z., & Artika, K. (2012). Penggunaan propolis Sapi, meningkatkan produktivitas ternak I7, Peranakan Ongole (PO). *JITV*, 3(22).
- Hirmarizqi, A. A. N., Sari, E., Fembriyanto, R. K., Hidayati, N. A., & Hertati, R. (2019). Identifikasi lebah kelulut asal Bangka dan pendataan jenis tumbuhan penghasil resin bahan baku pembuatan propolis. *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 4(2), 37–42.
- Hutomo, M., & Arinardi, O. H. (1992). Dampak Pembangkit Tenaga Listrik ( Terutama Limbah Termal ) Terhadap Ekosistem Akuatik. *Oseana*, 17(4), 135–158.
- Istikowati, W. T., Sunardi, S., Soendjoto, M. A., & Syaifuddin, S. (2019). Pengembangan Budidaya Lebah Kelulut Di Desa Batu Tanam, Sambung Makmur, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. *PengabdianMu: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 5(1), 59–66.
- Khairunnisa, B., Rosamah, E., Kuspradini, H., Kusuma, I. W., Tandirogang, N., & Arung, E. T. (2020). Uji Fitokimia dan Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Kelulut (*Tetragonula iridipennis*) Dari Samarinda. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 65–69. [http://jurnal.akfarsam.ac.id/index.php/jim\\_akfarsam/article/view/309](http://jurnal.akfarsam.ac.id/index.php/jim_akfarsam/article/view/309)
- Kubat, M., Karabulut, Z., & Şengül, S. (2021). Effect of propolis on wound healing in sacrococcygeal pilonidal disease: A randomized controlled clinical trial. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34(3), 1063–1067. <https://doi.org/10.36721/PJPS.2021.34.3.SUP.1063-1067.1>
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4)
- Mountford-McAuley, R., Prior, J., & Clavijo McCormick, A. (2021). Factors affecting propolis production. *Journal of Apicultural Research*, 1–9.
- Mulyati, A. H., Sulaeman, A., Marliyati, S. A., Rafi, M., & Rokhmah, U. F. (2021). *Macro and Micronutrient Content of Raw Propolis Collected from Different Regions in Indonesia*. 16(28), 109–114.
- Orsi, R. O., Sforcin, J. M., Rall, V. L. M., Funari, S. R. C., Barbosa, L., & Fernandes, J. A. (2005). Susceptibility profile of Salmonella against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 11(2). <https://doi.org/10.1590/S1678-91992005000200003>
- Paula, L. A. D. L., Cândido, A. C. B. B., Santos, M. F., Caffrey, C. R., Bastos, J. K., Ambrósio, S. R., & Guidi Magalhães, L. (2021). Antiparasitic properties of propolis extracts and their compounds: a review. *Chemistry & Biodiversity*.
- Pramono, S., & Puspitasari, A. D. (2015). Comparison of methods of producing bee propolis purified extract based on total flavonoid content using rutin as standard. *Majalah Obat Tradisional*, 20(2), 81–86.
- Rasmussen, C., & Gonzalez, V. H. (2017). The neotropical stingless bee genus *Nannotrigona* Cockerell (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): An illustrated key, notes on the types, and designation of lectotypes. *Zootaxa*, 4299(2), 191–220.
- Ribeiro, V. P., Arruda, C., Mejia, J. A. A., Bastos, J., Tripathi, S. K., Khan, S. I., & Ali, Z. (2021). Phytochemical, antiplasmodial, cytotoxic and antimicrobial evaluation of a Southeast Brazilian Brown Propolis produced by *Apis mellifera* bees. *Chemistry & Biodiversity*.
- Rosyidi, D., Eka Radiati, L., Minarti, S., Mustakim, M., Susilo, A., Jaya, F., & Azis, A. (2018). Perbandingan Sifat Antioksidan Propolis pada Dua Jenis Lebah (*Apis mellifera* dan *Trigona* sp.) di Mojokerto dan Batu, Jawa Timur, Indonesia. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak*, 13(2), 108–117. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2018.013.02.5>
- Sabir, A. (2005). Aktivitas antibakteri flavonoid

- propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro) (In vitro antibacterial activity of flavonoids *Trigona* sp propolis against *Streptococcus mutans*). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 38(3), 135. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v38.i3.p135-141>
- Saepudin, R., Kadarsih, S., & Sidahuruk., R. (2017). Pengaruh integrasi lebah Di, palawija terhadap produksi madu daerah Rejang Lebong, Bengkulu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 12(1), 55–63.
- Souza, E. A., Zaluski, R., Veiga, N., & Orsi, R. O. (2016). Effects of seasonal variations and collection methods on the mineral composition of propolis from *Apis mellifera* Linnaeus Beehives. *Brazilian Journal of Biology*, 76, 396–401.
- Wang, X., Sankarapandian, K., Cheng, Y., Woo, S. O., Kwon, H. W., Perumalsamy, H., & Ahn, Y. J. (2016). Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1043-y>