

# Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Dari Propolis Lebah Kelulut *Geniotrigona thoracica* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Azzah Fatimah Zulfa<sup>a,1</sup>, Muhammad Alib Batistuta<sup>a,2</sup>, Paula Mariana Kustiawan<sup>a,3\*</sup>

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

\*pmk195@umkt.ac.id

\*Korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Diterima : 01-05-2022 Direvisi : 17-05-2022 Disetujui : 20-05-2022</p> <p><b>Kata kunci:</b> Fraksi etil asetat; Antibakteri; Propolis; <i>Geniotrigona thoracica</i>; <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Key word:</b> Ethyl acetate fraction; Antibacterial; Propolis; <i>Geniotrigona thoracica</i>; <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Kalimantan memiliki setidaknya terdapat 50 spesies lebah kelulut, diantaranya lebah kelulut dengan spesies <i>Geniotrigona thoracica</i>. Lebah kelulut selain menghasilkan madu dengan rasa asam, jenis ini juga menghasilkan produk utama yaitu propolis. Propolis secara empiris memiliki aktivitas antioksidan, antikanker, antijamur, antiinflamasi, antivirus dan juga anti bakteri. Namun penelitian tentang propolis jenis <i>G. thoracica</i> masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari fraksi etil asetat dari propolis lebah kelulut <i>G. thoracica</i> asal Samarinda. Ekstrak metanol propolis <i>G. thoracica</i> dilakukan fraksinasi cair-cair dengan pelarut etil asetat dan pelarut polar. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran menggunakan bakteri <i>S. aureus</i>. Hasil uji antibakteri yang dilakukan menunjukkan fraksi etil asetat propolis <i>G. thoracica</i> mampu menghambat pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i>. Aktivitas antibakteri terbaik diperoleh pada konsentrasi 600ppm yaitu dengan zona hambat 13 mm. Fraksi etil asetat propolis <i>G. thoracica</i> asal Samarinda memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dengan kategori kuat</p> <p>ABSTRACT</p> <p>Kalimantan were have at least 50 species of kelulut bees, including the kelulut bee with the species <i>Geniotrigona thoracica</i>. The kelulut bee produces honey with a sour taste, and also produces propolis. Propolis commonly use as antioxidant, anticancer, antifungal, anti-inflammatory, antiviral and also antibacterial. The research about <i>G. thoracica</i> propolis still limited. This study aims to determine the antibacterial activity of the ethyl acetate fraction of <i>G. thoracica</i> propolis originated from Samarinda which can inhibit <i>Staphylococcus aureus</i> bacteria. The methanol extract of <i>G. thoracica</i> propolis was partition with liquid-liquid fractionation using ethyl acetate and polar liquid. Then, antibacterial was determined with agar well diffusion method. The results of the antibacterial test showed that the ethyl acetate fraction of the propolis <i>G. thoracica</i> were able to inhibit the growth of <i>S. aureus</i> bacteria, indicating that they have broad spectrum antibacterial activity. The highest antibacterial activity was obtained at 600ppm concentartion with an inhibition zone of 13 mm. The ethyl acetate fraction of <i>G. thoracica</i> propolis from Samarinda has antibacterial activity against <i>S. aureus</i> bacteria.</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

Provinsi Kalimantan Timur adalah wilayah dengan vegetasi hutan yang kelestariannya masih terjaga, lokasi seperti ini sangat cocok untuk lebah menetap karena mudah mendapatkan sumber makanan. Di hutan Indonesia ada berbagai macam lebah, yaitu lebah yang bersengat dan juga tidak

bersengat (Rasmussen & Gonzalez, 2017). Di Kalimantan setidaknya terdapat 50 spesies lebah kelulut, diantaranya lebah kelulut dengan spesies *Geniotrigona thoracica* (Silvestre *et al.* 2008).



**Gambar I.** Lebah dan propolis *Geniotrigona thoracica*

Lebah kelulut memiliki ciri berwarna hitam pekat seperti lalat, tidak bersengat, menghasilkan madu dengan rasa asam, dan juga menghasilkan produk utama yaitu propolis, dan juga lebah kelulut lebih banyak mengambil getah dari pohon yang menghasilkan buah-buahan (Aryanto *et al.* 2012).

Propolis sering di sebut sebagai lem lebah, zat resin yang dikumpulkan oleh lebah untuk digunakan sebagai pertahanan guna melindungi sarang dari kondisi cuaca yang buruk, mencegah retakan dan juga lubang pada sarang, serta melindungi sarang dari serangan musuh seperti virus atau bakteri (Ibrahim *et al.*, 2016). Propolis memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antikanker, antijamur, antiinflamasi, antivirus dan juga antibakteri karena komposisi kimianya yang beragam dan kompleks (Bogdanov, 2012). Propolis juga memiliki perlindungan yang bersifat desinfektan yaitu membunuh serangga, virus, dan bakteri yang akan masuk kedalam sarang lebah sehingga propolis digunakan sebagai antibiotik (Maulana, 2018). Propolis telah ditemukan memiliki efek antiseptik (Kakino *et al.*, 2012) dan telah lama digunakan secara tradisional sebagai obat (Silva-Carvalho *et al.* 2015). Metabolit sekunder yang terkandung dalam propolis seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Perbedaan lingkungan asal, kondisi iklim, geografis dan temperatur merupakan sebuah faktor yang mempengaruhi kandungan dari propolis (Maulana, 2018). Komposisi kimia madu, lilin, dan propolis lebah tanpa sengat bervariasi tergantung pada spesies lebah, asal botani, lingkungan, dan kondisi penyimpanan (Lim *et al.* 2019). Informasi terkait fraksinasi propolis jenis lebah kelulut *G. thoracica* terutama dari pelarut etil asetat masih terbatas. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dari

fraksi etil asetat dari propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* asal Samarinda.

## Metode

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel propolis segar *Geniotrigona thoracica* yang diambil dari peternakan lebah di wilayah lempake Samarinda, Kalimantan timur, bakteri *Staphylococcus aureus*, Metanol, etil asetat, aquadest, nutrisi agar, acetone, tiamphenicol, kertas saring, plastik warp, aluminium foil. Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, cawan porselen, waterbath, timbangan analitik, spatula, blender, corong pisah, batang pengaduk, dan tabung reaksi, mikropipet, vortex, rak tabung, dan cotton bud.

### Jalannya Penelitian

#### Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol untuk menghasilkan ekstrak metanol (Yuliawan *et al.*, 2021). Ekstrak tersebut yang dilanjutkan fraksinasi menggunakan partisi cair-cair.

#### Fraksinasi

Fraksinasi bertingkat dilakukan menggunakan dua jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda (Puspitasari & Pramono, 2015). Ekstrak metanol ditimbang sebanyak 20g kemudian dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan corong pisah. Ditambahkan pelarut metanol dan n-hexan (1:1). Filtrat metanol hasil fraksinasi tersebut dilarutkan kembali dengan etil asetat. Digojok kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 fase. Setelah terpisah, filtrat fraksi etil asetat diuapkan untuk mendapatkan fraksi etil asetat (Yuliawan *et al.*, 2021).

#### Uji Antibakteri

Pengujian menggunakan metode difusi sumuran, dituangkan 20ml larutan nutrisi agar ke dalam cawan petri, diamkan hingga mengeras. Setelah mengeras, bakteri diinokulasi dan dibuat 6 lubang sumuran yang ditambahkan 20  $\mu$ L fraksi dengan konsentrasi 75, 150, 300, dan 600 ppm. Aceton digunakan sebagai kontrol negatif dan Thiamphenicol sebagai kontrol positif. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat dihitung dengan satuan mm menggunakan jangka sorong (Kustiawan *et al.*, 2022).

#### Analisis Data

Data aktivitas antibakteri yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan SPSS IBM dengan metode One Way ANOVA pada taraf kepercayaan

95%. Metode yang digunakan ialah analisis deskriptif, data berupa zona hambat (mm).

## Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda yang bersifat eksperimental laboratorium secara *in vitro* untuk menguji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dari fraksi etil asetat dari propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* asal Samarinda. Metode ini digunakan karena memiliki kelebihan bakteri beraktivitas tidak hanya dipermukaan atas tetapi hingga ke permukaan bawah sehingga lebih mudah untuk mengukur zona hambat yang terbentuk (Nurhayati *et al.* 2020). Tahapan penelitian ini dilakukan secara urut yang dimulai dari ekstraksi, fraksinasi dan uji antibakteri dan juga penentuan konsentrasi yang dapat menghambat bakteri.

Ekstraksi maserasi propolis *Geniotrigona thoracica* menggunakan pelarut metanol sebanyak 150,29g menghasilkan sebanyak 31,23g ekstrak kental. Dapat dilihat pada Tabel I.

**Table I.** Hasil Ekstraksi Propolis *G. thoracica*

Berat propolis (g)	Berat ekstrak (g)	% rendemen
150,39	31,23	27,78%

Persentase rendemen menunjukkan komponen bioaktif yang terkandung, hasil ekstraksi dari propolis seberat 150,39 gram diperoleh % rendemen sebesar 27,78%. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol. Pelarut metanol mampu melarutkan hampir semua senyawa yang terkandung dalam propolis baik yang bersifat polar, semipolar, maupun non polar (Setiawan *et al.*, 2017). Keuntungan cara ekstraksi secara maserasi ini pengerjaannya sederhana dan mencegah kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Purwanto, 2015).

Ekstrak metanol yang telah diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi, pada proses fraksinasi larutan terpisah menjadi 2 fase. Dapat dilihat pada Gambar 2.



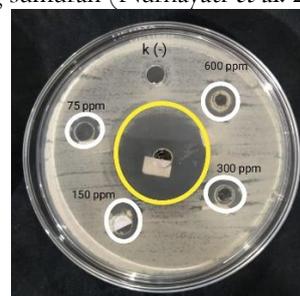
**Gambar 2.** Fraksinasi propolis *G. thoracica*

Setelah dilakukan fraksinasi dari 20g ekstrak metanol menghasilkan 8,29g fraksi etil asetat. Dapat dilihat pada Tabel 2.

**Table 2.** Hasil Fraksinasi propolis *Ge.thoracica*

Berat ekstrak awal yang digunakan (g)	Berat fraksi (g)	Persentase (b/b)
20	8,29	41,45%

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dilakukan dengan metode difusi sumuran untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat dalam propolis *Geniotrigona thoracica* setelah dilakukan fraksinasi. Pelarut yang digunakan adalah aseton dengan 4 konsentrasi fraksi yaitu 75,150,300, dan 600 ppm. Hasil pengujian antibakteri dengan metode difusi sumuran dibaca dengan melihat adanya zona hambat atau zona jernih yang terbentuk di sekitar lubang sumuran (Nurhayati *et al.* 2020).



**Gambar 3.** Hasil pengujian antibakteri fraksi etil asetat terhadap bakteri *S.aureus*

Dapat dilihat pada Gambar 3 hasil uji aktivitas antibakteri pada 4 konsentrasi tersebut dan pada kontrol positif membentuk zona hambat di sekitar sumuran. Hal ini menandakan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri yang dilakukan oleh larutan uji dan kontrol positif. Sementara pengujian aseton sebagai kontrol negatif menunjukkan hasil berupa tidak terjadi pembentukan zona hambat di sekitar sumur. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Lutfiyanti *et al.*, 2012) aseton digunakan sebagai kontrol negatif dan tidak menunjukkan terjadinya zona hambat. Tidak terbentuknya zona hambat pada aseton membuktikan bahwa aseton yang digunakan sebagai pelarut untuk membuat larutan konsentrasi uji tidak berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri. Sehingga dapat disimpulkan zona hambat yang terbentuk murni dari aktivitas fraksi etil asetat propolis *Geniotrigona thoracica* dan tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Hasil pengujian antibakteri secara lebih rinci dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pengolahan data dengan SPSS IBM, pada uji normalitas Whapiro-Wilk menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi  $>0,05$ . Selanjutnya analisis statistik *One Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna dari hasil perlakuan masing-masing

konsentrasi dan kontrol positif dengan nilai signifikansi <0,05.

**Table I.** Hasil Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Propolis *G. thoracica* terhadap pertumbuhan Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Propolis <i>G. Thoracica</i>	Zona Hambat (mm)			Rata-Rata
	Pengulangan			
	I	II	III	
75 ppm	8	9	5	9 ± 2
150 ppm	11	13	7	10 ± 4.4
300 ppm	12	11	11	11.3 ± 3.5
600 ppm	14	14	15	13 ± 1.7
Thiamphenicol	30	27	30	29.3 ± 1.7

Konsentrasi terbaik diberikan pada konsentrasi 600ppm karena menghasilkan zona hambat yang paling besar. Kemampuan fraksi etil asetat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Stapylococcus aureus* semakin besar dengan bertambahnya konsentrasi, hal ini disebabkan oleh kuantitas komponen aktif yang bersifat antibakteri akan semakin banyak dalam konsentrasi fraksi yang lebih tinggi (Pelczar, MJ & Chan 2008).

Pada penelitian pendahuluan, didapatkan hasil fraksi etil asetat propolis *Geniotrigona thoracica* ini mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut merupakan metabolit sekunder yang memiliki mekanisme kerja masing-masing dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Yuliawan *et al.*, 2021) propolis dengan jenis *Heterotrigona itama* yang difraksinasi dengan pelarut etil asetat juga mengandung senyawa metabolit alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen yang dapat ketidak stabilan struktur dinding dan membran sel bakteri (Astuti *et al.* 2016). Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, inaktivasi enzim, dan destruksi materi genetik (Lim 2006). Sedangkan saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran sel yang menyebabkan membran sel rusak (Juliantina *et al.* 2009).

Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa fraksi etil asetat propolis *Geniotrigona thoracica* terhadap bakteri gram positif *Stapylococcus aureus* menunjukkan larutan uji dengan konsentrasi 75 dan 150 ppm masuk dalam katagori sedang, pada konsentrasi 300 dan 600 ppm masuk dalam katagori kuat. Potensi antibakteri diukur dengan diameter

zona hambat yang dikelompokkan menjadi 4 katagori yaitu: diameter zona hambat < 5mm katagori lemah, diameter zona hambat 5-10mm katagori sedang, diameter zona hambat 10-20mm katagori kuat, dan diameter zona hambat > 20mm katagori sangat kuat (Rastina *et al.* 2015).

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri yang cenderung lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif Thiamphenicol. Kontrol positif Thiamphenicol pada bakteri *Stapylococcus aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 29.3 mm yang masuk dalam katagori sangat kuat. Berdasarkan hasil pengukuran rata-rata zona jernih, zona hambat terbaik yaitu 13 mm dengan konsentrasi 600ppm. Zona hambat yang terbentuk cenderung lebih besar jika dibandingkan dengan zona hambat pada penelitian yang dilakukan oleh (Abdullah *et al.*, 2020) yaitu pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol propolis *Geniotrigona thoracica* menghasilkan zona hambat sebesar 7,8 mm terhadap bakteri *Stapylococcus aureus*. Hal menunjukkan bahwa sampel yang diujikan pada pelarut semi polar etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan pelarut polar etanol. Bakteri *Stapylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. Struktur dinding sel antara bakteri positif dan negatif memiliki perbedaan, struktur dinding sel gram positif terdiri dari beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel. Sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis, hanya 1 sampai 2 % dari berat keringnya. Bakteri *Stapylococcus aureus* cenderung dapat dihambat oleh konsentrasi ekstrak yang lebih rendah. Hal ini dapat disebabkan karena ada perbedaan komponen penyusun dinding sel bakteri gram positif. Dinding sel yang dimiliki bakteri gram positif mengandung lipid yang lebih rendah dibandingkan bakteri gram negatif, sehingga komponen senyawa aktif yang bersifat semipolar lebih mudah masuk ke dalam dinding sel bakteri gram positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Khoiriyah *et al.* 2014).

Fraksi etil asetat dapat menyari senyawa yang tergolong semipolar. Hal ini menunjukkan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan senyawa semipolar.

## Simpulan dan Saran

Hasil uji antibakteri yang dilakukan menunjukkan fraksi etil asetat propolis *Geniotrigona thoracica* asal samarinda mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Stapylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri terbaik diperoleh pada konsentrasi

600ppm yaitu dengan zona hambat 13 mm katagori kuat.

Perlu dilakukan penelitian in vitro dengan metode berbeda dan penelitian lebih lanjut secara in vivo untuk mengeksplorasi senyawa yang berpotensi di dalam fraksi propolis *G. thoracica*.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur yang telah memberikan dukungan dana penelitian Kolaborasi Dosen dan Mahasiswa (KDM) terhadap penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Abdullah, N. A., Zullkiflee, N., Zaini, S. N. Z., Taha, H., Hashim, F., & Usman, A. (2020). Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees *Geniotrigona thoracica*, *Heterotrigona itama*, and *Tetrigona binghami*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 2902–2911. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.014>
- Aryanto, B. U. D. I. H., Asan, Z. H., & Rtika, K. U. I. A. (2012). *Penggunaan Propolis untuk Meningkatkan Produktivitas Ternak Sapi Peranakan Ongole (PO)*. 201–206.
- Bogdanov, S. (2012). Propolis : biological properties and medical applications. *The Propolis Book, Chapter 2, January*, 1–33.
- Farida Juliantina R, Dewa Ayu Citra M, B. N., & Titis Nurmasitoh, E. T. B. (2009). *Manfaat sirih merah (Piper crocatum) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif*.
- Hardian Nugro Astuti, R., Samadi, K., & Priyo Prasetyo, E. (2016). Daya Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* linn) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Conservative Dentistry Journal*, 6(2), 93–98.
- Ibrahim, N., Zakaria, A. J., Ismail, Z., & Mohd, K. S. (2016). Antibacterial and phenolic content of propolis produced by two Malaysian stingless bees, *Heterotrigona itama* and *Geniotrigona thoracica*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(1), 156–161.
- Kakino, M., Izuta, H., Tsuruma, K., Araki, Y., Shimazawa, M., Ichihara, K., & Hara, H. (2012). Laxative effects and mechanism of action of Brazilian green propolis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 22–24. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-192>
- Kustiawan, P. M., Aziz, A., & Yuliawan, V. N. (2022). *Antioxidant and Antibacterial Activity of Various Fractions of Heterotrigona itama Propolis Found in Kutai Kartanegara*. 10, 531–534.
- Lim, D. C. C., Abu Bakar, M. F., & Majid, M. (2019). Nutritional composition of stingless bee honey from different botanical origins. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 269(1), 0–5. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/269/1/012025>
- Lutfiyanti, R., Ma'ruf, W. F., & Dewi, E. N. (2012). Aktivitas antijamur senyawa bioaktif ekstrak gelidium latifolium terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 1(1), 26–33. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp/article/view/655>
- Maulana, haris. (2018). *Analisis Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Madu Lebah Heterotrigona Itama Di Rumah Kompos Uin Jakarta*. 1–76.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Pelczar, MJ; Chan, E. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (1st ed.). UI Press.
- Purwanto, S. (2015). Uji aktivitas antibakteri fraksi aktif ekstrak daun senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *uji aktivitas antibakteri fraksi aktif ekstrak daun senggani (Melastoma Malabathricum L) TERHADAP Escherichia Coli*, 2(2355), 84–92.
- Puspitasari, A. D., & Pramono, S. (2015). Comparison of Methods of Producing Bee Propolis Purified Extract Based on Total Flavonoid Content Using Rutin As Standard. *Traditional Medicine Journal*, 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. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4299.2.2>
- Rastina, Sudarwanto, M., & Wientarsih, I. (2015). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Curry Leaf (*Murraya koenigii*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas* Sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*,

- 9(2), 185–188.
- S. H. Lim, I. D. K. J. (2006). Antimicrobial and antioxidant activities of condensed tannin from *Rhizophora apiculata* barks. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(4), 436–444.
- Setiawan, E., Setyaningtyas, T., Kartika, D., & Ningsih, D. R. (2017). Potensi ekstrak metanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L) Sebagai antibakteri terhadap *Enterobacter aerogenes* Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Kimia Riset*, 2(2), 108.  
<https://doi.org/10.20473/jkr.v2i2.5753>
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.  
<https://doi.org/10.1155/2015/206439>
- Silvestre, D., Downton, M., & Arias, M. C. (2008). The mitochondrial genome of the stingless bee *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): Sequence, gene organization and a unique tRNA translocation event conserved across the tribe Meliponini. *Genetics and Molecular Biology*, 31(2), 451–460.  
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572008000300010>
- Yuliawan, V. N., Aziz, A., & Kustiawan, P. M. (2021). Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Dari Propolis Lebah Kelulut *Heterotrigona Itama* Asal Kutai Kartanegara. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(2), 131.  
<https://doi.org/10.31764/lf.v2i2.5496>