

# KARAKTERISASI SIMPLISIA MADU KELULUT (*Heterotrigona itama*) SEBAGAI BAHAN BAKU SEDIAAN OBAT PENYEMBUHAN LUKA

Nurlaila Afrilliah<sup>1</sup>, Wintari Taurina<sup>1</sup>, Mohamad Andrie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departemen Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kota Pontianak

## ABSTRAK

Karakterisasi bahan alam merupakan langkah untuk mengetahui kejelasan identitas bahan alam. Identitas bahan alam merupakan aspek penting pada produksi suatu obat herbal. Madu kelulut (*Heterotrigona itama*) adalah salah satu bahan alam yang diperoleh dari lebah kelulut. Madu kelulut berkhasiat sebagai obat penyembuhan luka karena bersifat antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi proses pembuatan simplisia dan simplisia madu kelulut yang berasal dari Desa Pangkalan 2, Kabupaten Bengkayang, sebagai bahan baku sediaan obat penyembuhan luka. Simplisia dikarakterisasi secara biologi meliputi habitat dan morfologi, secara fisika meliputi organoleptis, kadar air, kadar abu total, pH, dan bobot jenis, serta secara kimia meliputi skrining fitokimia. Proses pembuatan simplisia madu kelulut terdiri dari pengumpulan sampel, penyaringan, pengemasan, dan penyimpanan. Rendemen simplisia madu kelulut yang diperoleh sebesar 89,6%. Hasil karakterisasi yaitu lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) hidup di daerah dataran rendah dengan iklim tropis, wilayah yang hangat dan lembap, serta memiliki sistem vegetasi yang didominasi 60% pohon kelapa (*Cocos nucifera* L.), 5% pohon kaliandra (*Calliandra haematocephala*), 5% tanaman air mata pengantin (*Antigonon leptopus*), serta 30% terdiri atas pisang (*Musa paradisiaca* L.), pinang (*Areca catechu*), rambutan (*Nephelium lappaceum* L), durian (*Durio zibethinus*), ceri (*Prunus cerasus*), buah naga (*Selenicereus polyrhizus*), dan beberapa tanaman liar. Morfologi lebah kelulut terbagi menjadi bagian kepala, dada, dan perut, berukuran panjang 6 mm, dan berwarna hitam. Simplisia madu kelulut memiliki rasa asam sedikit manis, berwarna hitam, beraroma khas madu kelulut, kadar air 27,11%, kadar abu total 0,28%, pH 3,07, bobot jenis 1,34 g/mL, serta mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Berdasarkan hasil karakterisasi yang telah dilakukan, dapat disimpulkan simplisia madu kelulut yang diperoleh memiliki kualitas yang baik.

## Kata Kunci :

karakterisasi, simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*), lebah kelulut, bahan baku obat

## PENDAHULUAN

Luka adalah suatu bentuk kerusakan yang dapat terjadi pada jaringan kulit(1). Luka yang dibiarkan terbuka dikhawatirkan menjadi tempat bakteri untuk berkembang biak(2). Penelitian Cahyadi, dkk (2019) menyatakan bahwa salep madu kelulut memiliki efek penyembuhan luka dan antiinflamasi(3). Sifat madu yang mempercepat penyembuhan luka dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam suatu formulasi(4). Madu kelulut terbukti secara in vitro mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat dalam mempercepat penyembuhan luka(5). Madu kelulut dapat digunakan sebagai obat penyembuhan luka karena madu kelulut memiliki sifat antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi(4). Keunggulan madu kelulut dibandingkan dengan madu lebah bersengat adalah madu kelulut memiliki efek antimikroba yang lebih kuat. Efek antimikroba ini disebabkan karena madu kelulut memiliki kandungan hidrogen peroksida, flavonoid, dan fenol yang tinggi. Sifat antimikroba madu kelulut dapat digunakan sebagai bahan antibakteri dalam formulasi sediaan farmasi(3,6). Aktivitas antioksidan madu kelulut dihasilkan oleh senyawa fenolik dan flavonoid yang tinggi pada madu. Aktivitas antioksidan ini didasarkan pada kemampuan suatu senyawa untuk menghambat oksidasi dengan mengurangi produksi radikal bebas. Senyawa antioksidan berperan dalam menghentikan kerusakan oksidatif dengan menetralkan radikal bebas.

Aktivitas antioksidan secara signifikan berkaitan dengan beberapa sifat penyembuhan luka seperti antiinflamasi dan antimikroba(7). Aktivitas antiinflamasi disebabkan oleh adanya senyawa fenolik yang menghambat produksi mediator inflamasi yang berlebihan sehingga mengurangi lama peradangan pada tahap penyembuhan luka(4). Aktivitas antibakteri atau antimikroba pada madu juga dipengaruhi oleh adanya senyawa metabolit seperti flavonoid, alkaloid, tanin, serta senyawa polifenol. Adanya substansi cincin benzena dan rantai samping jenuh pada polifenol memengaruhi aktivitas antibakteri madu kelulut(8).

Madu kelulut adalah madu yang diperoleh dari lebah kelulut contohnya lebah kelulut spesies *Heterotrigona itama*(9). Lebah kelulut *Heterotrigona itama* dapat ditemukan di Sumatera, Jawa, dan Kalimantan. Lebah kelulut menyukai hutan lembap dan hangat. Lebah kelulut berbeda dengan lebah bersengat karena memiliki ukuran yang lebih kecil serta tidak memiliki sengat(6). Madu yang dihasilkan antara lebah kelulut dan lebah bersengat seperti lebah *Apis* sp. juga memiliki karakteristik yang berbeda(9). Madu kelulut memiliki aroma dan rasa yang umumnya asam. Warna madu kelulut dipengaruhi oleh sumber pakan lebah(6). Madu kelulut memiliki nilai keasaman dan kadar air yang cenderung lebih tinggi daripada madu lebah *Apis* sp. Nilai keasaman yang tinggi dan pH rendah

Masuk 17-05-2022

Revisi 28-06-2022

Diterima 15-12-2022

DOI: 10.20956/mff.v26i3.20969

## Korespondensi

Nurlaila Afrilliah  
afrillahnurlaila@gmail.com

## Copyright

© 2022 Majalah Farmasi  
Farmakologi Fakultas Farmasi  
Makassar

Diterbitkan tanggal  
30 Desember 2022

Dapat Diakses Daring Pada:  
<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



yang khas dari madu lebah kelulut ini dapat digunakan sebagai antimikroba(10). Madu mengandung kadar gula yang tinggi, protein, lemak, asam glutamat, polifenol, dan flavonoid(11). Madu juga memiliki berbagai mineral dan vitamin, enzim-enzim, serta senyawa hidrogen peroksida(6,9). Ahli bedah dari zaman Mesir kuno menggunakan madu untuk pengobatan luka terbuka. Manfaat madu kelulut dalam mempercepat penyembuhan luka disebabkan oleh adanya gula, protein, hidrogen peroksida, flavonoid, polifenol, serta keasaman dan kadar air yang tinggi. Sifat osmolaritas dan higroskopis yang dimiliki madu kelulut juga bermanfaat untuk mempercepat penyembuhan luka(4).

Madu termasuk simplisia hewani karena madu merupakan zat yang diperoleh dari hewan dan belum berupa senyawa murni(12). Karakterisasi simplisia bertujuan untuk mengetahui spesifikasi simplisia agar dapat mengidentifikasi kejelasan bahan alam(13). Karakterisasi merupakan langkah pembentukan identitas suatu bahan sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut. Identitas bahan alam yang digunakan untuk bahan baku produk obat herbal adalah aspek penting pada proses produksi. Profil keamanan, khasiat, dan kualitas bahan alam bisa bervariasi sehingga dibutuhkan proses karakterisasi(14,15). Faktor-faktor yang memengaruhi karakterisasi simplisia antara lain bahan baku simplisia (termasuk habitat dan lingkungan hidup bahan alam), proses pembuatan, dan cara penyimpanan simplisia. Penelitian Evahelda, dkk (2017) mengenai karakteristik fisik dan kimia madu dari nektar pohon karet di Kabupaten Bangka Tengah menjelaskan bahwa sifat fisik dan kimia madu dipengaruhi oleh iklim dan topografi, sumber nektar, cara pemanenan, proses pengolahan, serta suhu dan lama penyimpanan madu(16). Hingga saat ini, belum terdapat penelitian yang menjelaskan karakteristik simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*) yang berasal dari Desa Sungai Pangkalan 2, Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat sebagai bahan baku sediaan obat penyembuhan luka. Berdasarkan hal tersebut, dilakukanlah karakterisasi proses pembuatan simplisia dan simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*) sebagai bahan baku sediaan obat penyembuhan luka yang meliputi karakterisasi secara biologi yaitu morfologi dan habitat, karakterisasi secara fisika yaitu organoleptis, kadar air, kadar abu total, pH, dan bobot jenis, serta karakterisasi secara kimia yaitu skrining fitokimia.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang diperlukan yaitu alat penyedot madu, wadah penampungan madu, saringan, wadah penyimpanan, tabung reaksi, pipet tetes, gelas ukur 10 mL, penangas air, pipet ukur 1 mL, penggaris, botol timbang, oven, eksikator, timbangan analitik, cawan porselen, tanur listrik, pH meter, gelas beaker 250 mL, tisu, dan piknometer 10 mL.

Bahan-bahan yang diperlukan yaitu madu kelulut (*Heterotrigona itama*) yang baru dipanen, larutan  $\text{FeCl}_3$  0,1%, aquadest, larutan HCl 2N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, etanol 95%, serbuk Zn, HCl pekat, aseton, larutan asetat anhidrida, asam sulfat pekat, air panas, serta larutan penyangga pH 4 dan 7.

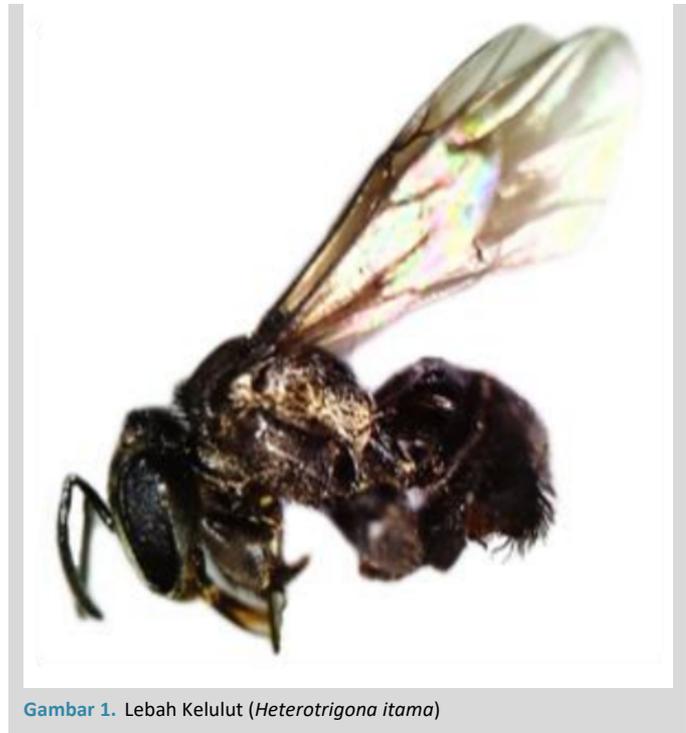
### Prosedur Kerja

#### Pengamatan Habitat

Habitat lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) diamati, meliputi iklim, cuaca, dan vegetasi di peternakan lebah kelulut, serta sarang lebah kelulut. Pengamatan habitat dilakukan dengan observasi secara langsung terhadap sarang lebah kelulut dan wawancara dengan peternak madu kelulut.

#### Pengamatan Morfologi

Morfologi lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) diamati, meliputi kelengkapan bagian dan bentuk tubuh, warna tubuh, dan permukaan tubuh. Pengamatan morfologi dilakukan secara makroskopis dengan melihat morfologi yang tampak pada lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) dan mengukur panjang lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) dengan menggunakan penggaris. Gambar lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) dapat dilihat pada gambar 1(17).



Gambar 1. Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*)

#### Determinasi

Determinasi lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) dilakukan di Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

#### Pengumpulan Sampel

Madu kelulut (*Heterotrigona itama*) diperoleh dari Peternakan Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*) RT 002/RW 001 Dusun Pangkalan Darat, Desa Sungai Pangkalan 2, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat. Madu kelulut (*Heterotrigona itama*) dipanen pada pagi hari dan tidak pada saat hari hujan. Madu kelulut di dalam pot madu disedot dengan alat penyedot madu yang terhubung dengan wadah penampungan.

#### Pembuatan Simplisia

Madu yang telah ditampung ditimbang sebanyak 250 g dan disaring dengan saringan. Hasil saringan ditimbang dan rendemen simplisia dihitung. Simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*) disimpan dalam kulkas dalam wadah tertutup rapat serta terhindar dari cahaya matahari langsung. Rendemen simplisia dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{w}{w_0} \times 100\%$$

Keterangan:

w= bobot hasil saringan madu kelulut (*Heterotrigona itama*) (g)

w<sub>0</sub>= bobot madu kelulut (*Heterotrigona itama*) sebelum disaring (g)

### Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis madu kelulut (*Heterotrigona itama*) dilakukan dengan pancaindera untuk mendeskripsikan rasa, warna, dan aroma dari simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*).

### Skrining Fitokimia

#### Tanin

Simplisia madu kelulut (0,5 g) dicampur dengan aquadest sebanyak 10 mL pada tabung reaksi lalu ditetesi dengan 2 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub> 0,1%. Perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kecokelatan mengindikasikan terdapat senyawa tanin dalam madu(18,19).

#### Alkaloid

Simplisia madu kelulut (2 mL) dilarutkan dengan 6 mL aquadest pada tabung reaksi dan diambil sebanyak 3 mL lalu ditambahkan 0,3 mL HCl 2N. Larutan dipanaskan selama 3 menit dalam air mendidih lalu dibiarkan dingin. Larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL untuk masing-masing 3 tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Wagner untuk masing-masing tabung reaksi. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah untuk tabung reaksi dengan pereaksi Dragendorff, endapan putih untuk tabung reaksi dengan pereaksi Mayer, dan endapan merah kecokelatan untuk tabung reaksi dengan pereaksi Wagner(20).

#### Flavonoid

Simplisia madu kelulut (0,5 g) dilarutkan dengan 1 mL etanol 95% pada tabung reaksi lalu ditambahkan HCl 2N sebanyak 2 mL dan serbuk Zn sebanyak 50 mg. Larutan uji didiamkan selama 60 detik kemudian ditambahkan HCl pekat sebanyak 10 tetes dan diamati selama 2-5 menit. Terbentuknya warna merah yang intensif mengindikasikan terdapat senyawa flavonoid dalam madu(18,21).

#### Steroid/triterpenoid

Simplisia madu kelulut (1 mL) yang diencerkan dalam aseton dicampur dengan larutan asetat anhidrat sebanyak 10 tetes dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes lalu dikocok dengan kuat. Perubahan warna biru-hijau mengindikasikan terdapat senyawa steroid, sedangkan warna merah atau ungu mengindikasikan terdapat senyawa triterpenoid(11).

#### Saponin

Simplisia madu kelulut (60 mg) dicampur dengan 2 mL aseton dan ditambahkan air panas sebanyak 3 mL. Larutan didinginkan lalu dikocok dengan kuat selama 10 detik. Adanya gelembung atau buih konstan dengan tinggi 1-10 cm selama 10 menit setelah penambahan HCl 2N sebanyak 1 tetes dan buih yang terus menerus, menunjukkan adanya saponin dalam madu(11).

#### Penetapan Kadar Air

Simplisia madu kelulut sebanyak 1-2 gram dimasukkan ke botol timbang dengan bobot yang diketahui. Simplisia dipanaskan dengan suhu 105-110°C dalam oven selama 2 jam lalu didinginkan selama 10 menit dalam eksikator. Simplisia ditimbang dan dimasukkan kembali ke dalam oven selama 60 menit. Simplisia kemudian didinginkan dan ditimbang lagi. Ulangi langkah pemanasan dan penimbangan hingga tercapai bobot konstan yang didapat dengan cara selisih penimbangan tidak lebih dari 0,2 mg secara berturut-turut. Rumus penetapan kadar air(22):

$$\text{Kadar air} = \frac{w}{w_1} \times 100\%$$

Keterangan:

w= selisih bobot madu kelulut (*Heterotrigona itama*) sebelum dan sesudah dikeringkan (g)

w<sub>1</sub>= bobot madu kelulut (*Heterotrigona itama*) sebelum dikeringkan (g)

#### Penetapan Kadar Abu Total

Simplisia madu kelulut sebanyak 2 g dimasukkan ke cawan porselen dengan bobot yang diketahui. Simplisia dipanaskan hingga terbentuk arang dengan pembakar kemudian diabukan dengan suhu 550-600°C dalam tanur listrik hingga pengabuan telah sempurna. Simplisia didinginkan dalam eksikator lalu ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Rumus penetapan kadar abu total(23):

$$\text{Kadar abu} = \frac{w_1 - w_2}{w} \times 100\%$$

Keterangan:

w= bobot madu kelulut (*Heterotrigona itama*) sebelum diabukan (g)

w<sub>1</sub>= bobot madu kelulut (*Heterotrigona itama*) + cawan setelah diabukan (g)

w<sub>2</sub>= bobot cawan kosong (g)

#### Uji pH

Uji pH dilakukan dengan alat pH meter. Alat pH meter dikalibrasi menggunakan larutan penyangga pH 4 dan pH 7. Elektroda dicuci dengan air dan dikeringkan dengan tisu. Elektroda kemudian dicelupkan ke dalam simplisia madu kelulut lalu dibiarkan hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap. Catat angka yang terbaca pada pH meter(24).

#### Penetapan Bobot Jenis

Penetapan bobot jenis dilakukan dengan alat piknometer. Piknometer yang digunakan harus kering dan bersih. Bobot piknometer kosong ditimbang. Piknometer diisi dengan aquadest lalu ditimbang. Piknometer diisi dengan simplisia madu kelulut lalu ditimbang. Rumus bobot jenis(25):

$$\text{Bobot jenis} = \frac{w_2 - w}{w_1 - w}$$

Keterangan:

w= bobot piknometer kosong (g)

w<sub>1</sub>= bobot piknometer yang diisi dengan aquadest (g)

w<sub>2</sub>= bobot piknometer yang diisi dengan madu kelulut (*Heterotrigona itama*) (g)

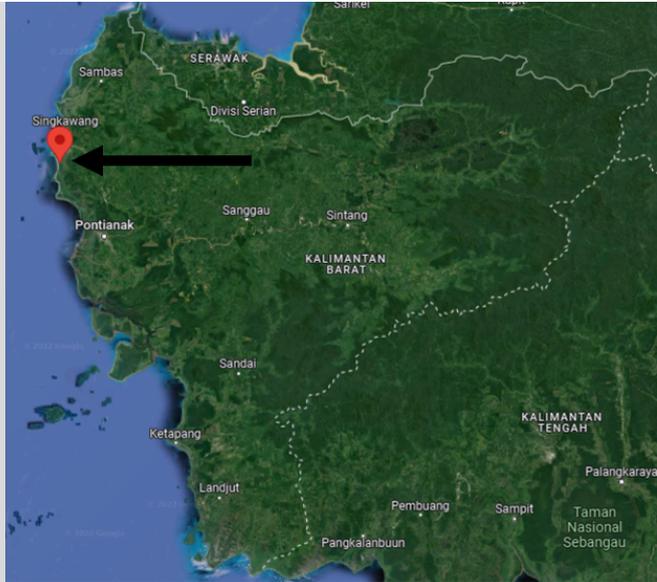
#### Analisis Data

Hasil penelitian dilakukan dengan studi literatur, studi dokumen, observasi, dan wawancara. Studi literatur merujuk pada jurnal-jurnal penelitian dan buku-buku penunjang. Studi dokumen merujuk pada dokumen Standar Nasional Indonesia. Observasi yang dilakukan berupa pengamatan habitat dan morfologi, proses pembuatan simplisia, serta hasil uji laboratorium meliputi

determinasi, pemeriksaan organoleptis, skrining fitokimia, uji kadar air, uji kadar abu total, uji pH, dan uji bobot jenis. Wawancara yang dilakukan berupa tanya jawab bersama peternak lebah kelulut meliputi jenis, habitat, dan cara beternak lebah kelulut, serta cara pemanenan, pembuatan, dan penyimpanan madu kelulut.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Habitat Lebah Kelulut



Gambar 2. Peta geografis Desa Sungai Pangkalan 2, Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat

Peternakan lebah kelulut berada di RT 002/RW 001 Dusun Pangkalan Darat, Desa Sungai Pangkalan 2, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat. Letak geografis daerah ini dapat dilihat pada gambar 2. Daerah ini beriklim tropis yang hangat dan lembap. Lokasi peternakan berada di daerah dataran rendah. Cuaca di peternakan tidak menentu. Penelitian Sanjaya, dkk (2019) mengenai studi habitat lebah kelulut di Desa Pisak, Kabupaten Bengkayang menjelaskan habitat lebah kelulut berada di daerah yang memiliki ketinggian  $\pm 360$  m dpl pada kisaran suhu  $27-31^{\circ}\text{C}$ (26). Sarang lebah kelulut berada di tempat yang teduh karena terlindungi oleh kerimbunan tanaman yang ada di peternakan. Sarang lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) pada penelitian ini menggunakan sistem tertutup dengan model *topping*. Model *topping* adalah penempatan kotak kayu sebagai ruang buatan di atas log untuk menyimpan sarang madu kelulut. Log adalah sarang lebah kelulut yang masih alami dan umumnya dari kayu(6). Sarang lebah kelulut dapat dilihat pada gambar 3. Sarang lebah kelulut berupa kantung-kantung yang tersusun dengan posisi mendarat dan berbentuk gundukan. Berdasarkan Fadhillah (2015) dan Sanjaya, dkk (2019), habitat lebah kelulut adalah daerah beriklim tropis, tempat yang lembap dan hangat, di ketinggian tempat yang tidak terlalu tinggi, dan sarang yang terhindar dari paparan sinar matahari langsung(6,26). Ketersediaan pakan lebah kelulut di peternakan bervariasi. Madu kelulut pada penelitian ini termasuk madu multiflora. Tanaman yang tumbuh di kebun peternakan lebah kelulut didominasi 60% pohon kelapa (*Cocos nucifera* L.), 5% kaliandra (*Calliandra haematocephala*), 5% air mata pengantin (*Antigonon leptopus*), dan 30% terdiri atas pisang (*Musa paradisiaca* L.), pinang (*Areca catechu*), rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), durian (*Durio zibethinus*), ceri (*Prunus cerasus*), buah naga (*Selenicereus polyrhizus*), dan beberapa tanaman liar. Kondisi vegetasi peternakan lebah kelulut dapat memengaruhi warna dan kandungan senyawa metabolit pada madu kelulut. Penelitian Hakim, dkk (2021) menyatakan bahwa

madu yang berwarna terang dapat dihasilkan dari lebah kelulut yang menghisap nektar dari tanaman famili Arecaceae (14%), Euphorbiaceae (14%), dan Sapindaceae (10%), sedangkan madu berwarna gelap dapat dihasilkan dari lebah kelulut yang menghisap nektar dari tanaman famili Euphorbiaceae (76,2%), Malvaceae (5,5%), dan Verbenaceae (4,3%)(8,9).



Gambar 3. Sarang Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*)

### Morfologi dan Determinasi Lebah Kelulut

Kelengkapan tubuh lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) yang berasal dari peternakan lebah kelulut di Desa Sungai Pangkalan 2, Kabupaten Bengkayang, terdiri dari kepala, dada, dan perut. Lebah kelulut yang diamati tidak memiliki sengat. Pada bagian kepala, terdapat antena, mulut, dan mata. Antena lebah kelulut berukuran panjang. Mata berbentuk bulat dan lebar. Mulut lebah kelulut berbentuk moncong. Pada bagian dada, terdapat satu pasang sayap. Ukuran sayap lebah kelulut lebih panjang daripada badan. Lebah kelulut yang diamati berukuran 6 mm. Lebah kelulut memiliki 3 pasang kaki. Warna lebah kelulut yang diamati secara keseluruhan adalah hitam dengan warna sayap kecoklatan dan semi transparan. Permukaan tubuh lebah kelulut ditutupi oleh rambut putih halus. Gambar lebah kelulut yang diamati dapat dilihat pada gambar 4. Hasil determinasi lebah kelulut menunjukkan benar bahwa lebah kelulut yang memproduksi madu kelulut pada penelitian ini adalah lebah kelulut spesies *Heterotrigona itama*.



Gambar 4. Kelengkapan dan Ukuran Tubuh Lebah Kelulut

## Pengumpulan Sampel dan Pembuatan Simplisia Madu Kelulut

Sampel madu dikumpulkan pada pagi hari dan tidak saat terjadi hujan. Pemanenan madu kelulut yang dilakukan saat hujan dapat memengaruhi kualitas madu kelulut (kadar air madu kelulut menjadi lebih tinggi), kualitas sarang (sarang dapat berjamur), kualitas bunga (nektar dapat terbilas air hujan), dan mobilitas lebah kelulut (lebah menjadi kurang aktif). Pemanenan madu kelulut dilakukan menggunakan teknik sedot menggunakan alat sedot yang dirakit oleh peternak lebah kelulut dan terhubung dengan wadah penampungan madu. Madu kelulut yang telah terkumpul pada wadah penampungan ditimbang sebanyak 250 gram. Langkah selanjutnya adalah dilakukan penyaringan madu kelulut. Penyaringan madu bertujuan untuk memisahkan madu dengan *bee pollen* dan pengotor yang dikawatirkan dapat mengganggu proses pembuatan sediaan obat penyembuhan luka. Penyaringan madu juga dapat mencegah kecenderungan madu untuk mengkristal. Penyaringan dapat menghilangkan zat yang merangsang pembentukan kristal seperti *bee pollen*, kristal glukosa, dan propolis(27). Penyaringan dilakukan menggunakan saringan kain berbahan *nylon filter* yang digunakan untuk menyaring cairan seperti madu. Hasil saringan madu kelulut kemudian ditimbang untuk mendapatkan bobot simplisia madu kelulut. Bobot simplisia madu kelulut yang diperoleh adalah 224 gram sehingga didapatkan rendemen simplisia madu kelulut sebesar 89,6%. Simplisia madu kelulut kemudian dikemas dan disimpan. Wadah penyimpanan simplisia madu kelulut pada penelitian ini berupa botol plastik yang tertutup rapat. Simplisia madu kelulut disimpan pada kulkas. Pada penelitian ini, suhu dingin kulkas yang digunakan adalah 3,2°C dengan kelembapan 42%. Berdasarkan SNI 8664:2018 tentang madu, selama proses penanganan pasca panen pada madu, termasuk pengangkutan dan penyimpanan madu, madu kelulut harus diperlakukan pada suhu di bawah 28°C, terhindar dari sinar matahari langsung dan udara terbuka, serta peralatan berbahan logam(28). Penelitian Karnia, dkk (2019) menyebutkan bahwa madu sebaiknya disimpan pada suhu dingin untuk menghambat proses fermentasi madu(29).

## Pemeriksaan Organoleptis

Tabel 1. Hasil pemeriksaan organoleptis simplisia madu kelulut

Pengamatan	Hasil
Rasa	Asam, sedikit manis
Warna	Hitam
Aroma	Khas madu

Pemeriksaan organoleptis dilakukan menggunakan pancaindera, meliputi pengamatan rasa, warna, dan aroma dari simplisia madu kelulut. Hasil pemeriksaan organoleptis simplisia madu kelulut tertera pada tabel 1. Simplisia kelulut yang diperiksa memiliki rasa asam sedikit manis, berwarna hitam, dan aroma khas madu kelulut. Rasa asam pada madu kelulut merupakan ciri khas madu tersebut yang menunjukkan tingginya kandungan senyawa antioksidan, seperti vitamin C(30). Rasa asam ini bisa jadi juga disebabkan oleh ciri khas kadar air madu kelulut yang tinggi. Aroma madu kelulut dapat dipengaruhi oleh asam-asam yang terbentuk dari hasil fermentasi(31). Warna madu kelulut dipengaruhi oleh kandungan fenolik, mineral, pollen, asal geografis, jenis tanaman penghasil nektar, serta suhu dan lama penyimpanan madu. Semakin tinggi atau lama suhu penyimpanan, perubahan warna madu semakin gelap karena kadar hidroksimetilfurfural (HMF) pada madu meningkat(29,31-33).

## Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia simplisia madu kelulut pada penelitian ini tertera pada tabel 2. Hasil ini menyatakan bahwa simplisia madu kelulut memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Kandungan senyawa pada madu kelulut

dipengaruhi oleh perbedaan variasi vegetasi sumber pakan lebah dan lokasi geografis atau asal madu. Saputra, dkk (2021) meneliti madu kelulut (*Heterotrigona itama*) yang berasal dari beberapa lokasi di Kalimantan Timur. Hasil skrining fitokimia madu tersebut berbeda. Madu kelulut (*Heterotrigona itama*) yang berasal dari Desa Karya Merdeka, Kutai Kartanegara mengandung tanin dan flavonoid, sedangkan madu kelulut (*Heterotrigona itama*) yang berasal dari Desa Penajam, Penajam Paser Utara mengandung alkaloid dan flavonoid. Perbedaan kandungan senyawa ini dipengaruhi oleh perbedaan vegetasi di kedua lokasi tersebut. Vegetasi di Desa Karya Merdeka meliputi *Pigafetta elata*, *E. guineensis*, *Psychotria fractinervata*, *Bidens pilosa*, *Rhodomyrtus tomentosa*, *Sauropus androgynous*, *Melastoma malabathricum*, *F. fraseri*, *Cistus asper*, *Combretum goldieanum*, *Averrhoa carambola*, *Artemisia annua*, dan *Agelaea pentagyna*, sedangkan vegetasi di Desa Penajam meliputi *A. mangium*, *E. guineensis*, *Chamaerops humilis*, *C. goldieanum*, *Antiaris toxicaria*, *Syzygium* sp., *Apocynaceae* sp., *Synedrella nodiflora*, *Cosmos sulphureus*, *Musa* sp., *Solanum melongena*, *A. gangetica*, dan *C. pendula*(8).

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia simplisia madu kelulut

Senyawa Golongan	Hasil Uji
Tanin	Negatif
Alkaloid	Positif
Flavonoid	Positif
Steorid/Triterpenoid	Positif Triterpenoid
Saponin	Negatif

## Penetapan Kadar Air

Uji kadar air dilakukan menggunakan metode gravimetri dengan prinsip menguapkan air yang terkandung dalam sampel dengan cara pemanasan lalu sampel ditimbang hingga diperoleh berat konstan(34). Hasil uji penetapan kadar air simplisia madu kelulut pada penelitian ini sebesar 27,11% (Tabel 3). Hasil ini sesuai dengan syarat mutu madu kelulut berdasarkan SNI 8664:2018, yaitu tidak lebih dari 27,5%(28). Kadar air yang melebihi batas persyaratan mutu madu dapat menyebabkan madu cepat rusak. Kadar air yang terlalu tinggi dapat mempercepat tumbuhnya khamir *Zygosaccharomyces*. Adanya khamir *Zygosaccharomyces* menyebabkan proses fermentasi sehingga meningkatkan nilai keasaman madu(9). Kadar air yang tinggi merupakan karakteristik khas madu kelulut(35). Kadar air madu kelulut dapat dipengaruhi kelembapan relatif udara. Jika kelembapan relatif udara lebih tinggi daripada kadar air madu kelulut, maka akan terjadi penyerapan uap air ke dalam madu kelulut sehingga kadar air menjadi lebih tinggi(36). Kadar air madu kelulut juga dapat dipengaruhi oleh proses penanganan pasca panen yang tidak tepat, jenis nektar yang dihisap, dan tingkat kematangan madu. Madu kelulut yang telah dipanen harus segera diproses untuk meminimalisir kontak dengan udara karena madu kelulut bersifat higroskopis, artinya mudah menyerap uap air(36). Penyerapan uap air oleh madu kelulut dapat terjadi saat proses penyaringan hingga penyimpanan madu kelulut. Tingkat kematangan madu juga memengaruhi kadar air. Pemanenan yang terlalu awal dapat menyebabkan tingginya kadar air karena sarang lebah kelulut belum tertutup secara keseluruhan oleh lilin (37).

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air, kadar abu total, dan bobot jenis simplisia madu kelulut

Simplisia	Uji Ke-	Kadar Air (%)	Kadar Abu Total (%)	Bobot Jenis (g/mL)
Madu Kelulut	1	26,51	0,27	1,34
	2	27,72	0,28	1,34
	3	-	-	1,34
Rata-rata		27,11	0,28	1,34

## Penetapan Kadar Abu

Uji kadar abu total dilakukan menggunakan metode gravimetri dengan prinsip oksidasi zat organik dengan pemanasan suhu

500-600°C. Setelah proses pembakaran, zat anorganik yang tertinggal ditimbang(38). Kadar abu total madu kelulut menunjukkan banyaknya mineral pada madu yang berasal dari nektar, pollen, atau serbuk sari(10,23). Hasil uji penetapan kadar abu total simplisia madu kelulut pada penelitian ini sebesar 0,28% (Tabel 3). Hasil ini sesuai dengan syarat mutu madu kelulut berdasarkan SNI 8664:2018, yaitu tidak lebih dari 0,5%(28). Kadar abu dapat dipengaruhi oleh jenis tanaman penghasil nektar dan pollen, lokasi tumbuh tanaman dan komposisi tanah, serta spesies lebah. Kadar abu madu kelulut relatif lebih tinggi daripada madu lebah *Apis*. Penyebab perbedaan kadar abu antara madu kelulut dan madu lebah *Apis* adalah terkait dengan asal usul madu, yaitu sumber pakan lebah. Lebah kelulut hidup di daerah yang sumber pakannya tumbuh pada tanah yang memiliki kandungan mineral yang lebih tinggi daripada lebah *Apis*(10). Mineral yang terdapat pada madu kelulut antara lain kalium, besi, fosfor, kalsium, natrium, magnesium, dan seng. kalsium, kalium, natrium, dan magnesium adalah mineral utama madu(9).

### Uji pH

Uji pH dilakukan dengan alat pH meter. Prinsipnya adalah pengukuran aktivitas ion hidrogen secara elektrometri atau potensiometri(39). Nilai pH simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*) pada penelitian ini adalah 3,07. Belum ada Standar Nasional Indonesia (SNI) yang menyebutkan persyaratan pH madu kelulut. Namun, berdasarkan *Malaysian Standard*, pH madu kelulut yang baik berada pada rentang 2,5-3,8(9). Berdasarkan standard ini, madu kelulut pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan mutu madu kelulut. Syafrizal, dkk (2020) meneliti pH madu kelulut yang diperoleh dari Kalimantan Timur dan Utara. Hasil penelitian menyatakan bahwa pH madu kelulut pada 11 sampel madu yaitu 3 dan 4(11). Madu kelulut berbeda dengan madu lebah bersengat seperti *Apis mellifera*. Perbedaan utama dari kedua madu ini adalah pada madu kelulut, kadar air lebih tinggi dan aktivitas enzim diastase lebih rendah, serta spektrum gula kedua madu berbeda(11). Tingginya kadar air memengaruhi keasamaan madu kelulut. Kadar air yang tinggi mengakibatkan proses fermentasi mudah terjadi sehingga meningkatkan nilai keasamaan. Proses fermentasi yang terjadi adalah fermentasi oleh khamir *Zygosaccharomyces* yang mengubah rasa madu karena terbentuknya alkohol yang bereaksi dengan oksigen menyebabkan asam bebas bermunculan(9). Asam-asam tersebut antara lain asam oksalat dan asam asetat yang dapat memengaruhi rasa, keasamaan, dan aroma madu(31). Proses fermentasi dapat diketahui berdasarkan adanya gas alkohol pada madu(29). Keasamaan yang tinggi merupakan salah satu karakteristik dari madu kelulut(35). Keasamaan madu dipengaruhi oleh kadar air, disosiasi ion hidrogen dalam air, sumber pakan lebah, dan kadar mineral pada madu(36). Madu yang memiliki pH rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

### Penetapan Bobot Jenis

Penetapan bobot jenis dilakukan dengan alat piknometer. Hasil penetapan bobot jenis madu kelulut pada penelitian ini adalah 1,34 g/mL (Tabel 3). Belum ada Standar Nasional Indonesia (SNI) yang menyebutkan persyaratan bobot jenis madu kelulut. Penelitian Okeola, dkk (2020) menetapkan bobot jenis madu kelulut yang diukur pada penelitian tersebut adalah 1,44 g/mL(40). Hasil ini tidak jauh berbeda dengan bobot jenis simplisia madu kelulut pada penelitian ini. Bobot jenis madu dipengaruhi oleh sumber pakan yang dihisap oleh lebah, kondisi cuaca, dan pengolahan(41). Bobot jenis juga dipengaruhi oleh temperatur dan tekanan, tetapi pengaruhnya kecil untuk zat cair. Nilai bobot jenis madu dapat dijadikan parameter untuk mengetahui kandungan air yang ada pada madu. Bobot jenis madu lebih besar daripada bobot jenis air. Madu yang memiliki bobot jenis yang tinggi mengindikasikan bahwa madu memiliki jumlah partikel atau molekul yang banyak. Nilai bobot jenis juga

dapat dijadikan dasar untuk membedakan madu alami dan madu buatan. Bobot jenis dapat menggambarkan kemurnian suatu bahan(42). Madu yang memiliki bobot jenis rendah dikhawatirkan adalah madu buatan atau madu tidak murni yang telah dicampur dengan air.

## KESIMPULAN

Karakterisasi proses pembuatan simplisia madu kelulut (*Heterotrigona itama*) yang berasal dari Desa Sungai Pangkalan 2, Kabupaten Bengkayang, terdiri dari pengumpulan sampel, penyaringan, pengemasan, dan penyimpanan simplisia. Pengumpulan sampel dilakukan pada pagi hari saat hari cerah dan tidak terjadi hujan. Pengumpulan sampel dipengaruhi oleh musim. Musim memengaruhi kualitas bunga, mobilitas lebah, kualitas madu, dan kualitas sarang. Rendemen simplisia madu kelulut yang diperoleh adalah 89,6%. Habitat lebah kelulut berada pada daerah dataran rendah dengan iklim tropis, wilayah yang hangat dan lembap, cuaca tidak menentu, serta memiliki sistem vegetasi yang didominasi 60% pohon kelapa, 5% pohon kaliandra, 5% tanaman air mata pengantin, dan 30% gabungan pisang, pinang, rambutan, durian, ceri, buah naga, dan beberapa tanaman liar. Lebah kelulut hidup pada sarang yang terdiri dari kantung-kantung madu yang berbentuk gundukan secara mendatar. Morfologi lebah kelulut yaitu berukuran panjang 6 mm, berwarna hitam dengan sayap kecoklatan, memiliki kepala, dada, perut, antena, mulut, mata, 1 pasang sayap, 3 pasang kaki, dan tidak memiliki sengat. Permukaan tubuh ditutupi oleh rambut putih halus. Simplisia madu kelulut memiliki rasa asam sedikit manis, berwarna hitam, dan beraroma khas madu. Simplisia madu kelulut dinyatakan positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Kadar air dan kadar abu total pada simplisia madu kelulut secara berturut-turut adalah 27,11% dan 0,28%, pH madu kelulut 3,07, serta bobot jenis 1,34 g/mL.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih untuk Universitas Tanjungpura yang telah berkontribusi dalam pendanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Purnama H, Sriwidodo, Ratnawulan S. Review sistematik: proses penyembuhan dan perawatan luka. *Farmaka*. 2017;15(2):255-6. DOI: 10.24198/jfv15i2.13366
2. Putri NA, Asparini RR. Peran madu dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada luka bakar. *Saintika Med*. 2017;13(2):63. DOI: 10.22219/sm.v13i2.5413
3. Cahyadi MA, Sidharta BBR, To N. Karakteristik dan efektivitas salep madu klanceng dari lebah *Trigona* sp. sebagai antibakteri dan penyembuh luka sayat. *Biota*. 2019;4(3):104-9. DOI: 10.24002/biota.v4i3.2520
4. Azri M, Kasmuri AR. Stingless bee honey, the natural wound healer: a review. *Ski Pharmacol Physiol*. 2017;30:66-75. DOI: 10.1159/000458416
5. Andrie M, Taurina W. In vitro antibacterial effectiveness test of several herbal plant extract in a strongest antibacterial herbal attempt to discover the topical against *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Biomed Pharm Sci*. 2019;6(12):375-9.
6. Fadhilah R, Kiki R. Laba: lebah tanpa sengat. Depok: PT. Trubus Swadaya; 2015.
7. Al-Hatamleh MAI, Boer JC, Wilson KL, Plebanski M, Mohamad R, Mustafa MZ. Antioxidant-based medicinal properties of stingless bee products: recent progress and future directions. *Biomolecules*. 2020;10(923):1-28. DOI: 10.3390/biom10060923
8. Saputra SH, Saragih B, Kusuma IW, Arung ET. Antioxidant and antibacterial screening of honey of *Heterotrigona itama* collected from different meliponiculture areas in East Kalimantan, Indonesia. *Nusant Biosci*. 2021;13(2):232-7. DOI: 10.13057/nusantbiosci/n130213
9. Hakim SS, Wahyuningtyas RS, Rahmanto B. Sifat fisikokimia dan kandungan mikronutrien pada madu kelulut (*Heterotrigona itama*) dengan warna berbeda. *J Penelit Has Hutan*. 2021;39(1):1-12. DOI: 10.20886/jphh.2021.39.1.1-12
10. Gela A, Ararso Z, Kebebe D, Gebresilassie A. Physicochemical characteristics of honey produced by stingless bees (*Meliponula beccarii*) from West Showa zone of Oromia Region, Ethiopia. *Heliyon*. 2021;7:1-7. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e05875
11. Syafrizal, Ramadhan R, Kusuma IW, Egra S, Shimizu K, Kanzaki M, et al. Diversity and honey properties of stingless bees from meliponiculture in East and North Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*. 2020;21(10):4623-30. DOI: 10.13057/biodiv/d211021
12. Suharmati, Maryani H. Khasiat dan manfaat daun dewa dan sambung nyawa.

- Jakarta: AgroMedia Pustaka; 2003.
13. Handayani S, Wirasutisna KR, Insanu M. Penapisan fitokimia dan karakterisasi simplisia daun jambu mawar (*Syzygium jambos* Alston). *JF FIK UINAM*. 2017;5(3):174–83. DOI: 10.24252/jfuinam.v5i3.4353
  14. Sugarti L, Tri S. Karakteristik mutu simplisia rimpang jahe di PJ Cap Klanceng Kudus. *J Keperawatan dan Kesehatan Masy*. 2017;2(5):43–52. DOI: 10.31596/jcu.v2i5.163
  15. Syahidan HH, Wardhana YW. Review jurnal: parameter standarisasi tanaman herbal untuk pengobatan. *Farmaka*. 2019;17(1):263–72. DOI: 10.24198/jf.v17i2.22094
  16. Evahelda E, Pratama F, Malahayati N, B Santoso. Sifat fisik dan kimia madu dari nektar pohon karet di Kabupaten Bangka Tengah, Indonesia. *Agritech*. 2020;21(6):2619–28. DOI: 10.13057/biodiv/d210633
  17. Trianto M, Purwanto H. Morphological characteristics and morphometrics of stingless bees (Hymenoptera: Meliponini) in Yogyakarta, Indonesia. 2020;21(6):2619–28. DOI: 10.13057/biodiv/d210633
  18. Rumagit BI, Nahor E, Lalura CC. Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit buah mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.). In: *Prosiding Seminar Nasional*. 2020. p. 14–9.
  19. Bhuvaneswari S, Ashwin Karthick N, Deepa S, Aishwarya H, Udayaprakash NK. Quality analysis of phytochemical composition of branded and unbranded honey procured from the markets of Chennai, India. *Int J ChemTech Res*. 2014;6(9):4070–7.
  20. Yelin A, Kuntadi. Phytochemical identification of honey from several regions in Java and Sumbawa. In: *AIP Conference Proceedings 2120*. AIP Publishing; 2019. p. 3–8.
  21. Fajriah S, Megawati. Penapisan fitokimia dan uji toksisitas dari daun *Myristica fatua* Houtt. *Chim Nat Acta*. 2015;3(3):116–9. DOI: 10.24198/cna.v3.n3.9219
  22. Wulandari DD. Analisa kualitas madu (keasaman, kadar air, dan kadar gula pereduksi) berdasarkan perbedaan suhu penyimpanan. *J Kim Ris*. 2017;2(1):16. DOI: 10.20473/jkr.v2i1.3768
  23. Hasan AEZ, Herawati H, Purnomo P, Amalia L. Fisikokimia madu multiflora asal Riau dan potensinya sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Chem Prog*. 2020;13(2):81–90. DOI: 10.35799/cp.13.2.2020.31594
  24. Iskandar B, Sidabutar SEB, Leny. Formulasi dan evaluasi lotion ekstrak alpukat (*Persea americana*) sebagai pelembab kulit. *J Islam Pharm*. 2021;6(1):14–21. DOI: 10.18860/jip.v6i1.11822
  25. Iskandar B, Lukman A, Tartilla R, Surboyo MDC, Leny. Formulasi, karakterisasi dan uji stabilitas mikroemulsi minyak nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *J Ilm Ibnu Sina*. 2021;6(2):282–91. DOI: 10.36387/jiis.v6i2.724
  26. Sanjaya V, Astiani D, Sisillia L. Studi habitat dan sumber pakan lebah kelulut di kawasan Cagar Alam Gunung Nyiut Desa Pisak Kabupaten Bengkayang. *J Hutan Lestari*. 2019;7(2):786–98. DOI: 10.26418/jhl.v7i2.34072
  27. Krishnan R, Mohammed T, Kumar GS, Sh A. Honey crystallization: mechanism, evaluation, and application. *Pharma Innov*. 2021;10(5):222–31. DOI: 10.22271/tpi.2021.v10.i5Sd.6213
  28. Badan Standardisasi Nasional. SNI 8664:2018. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; 2018.
  29. Karnia I, Hamidah S, Rahmat A. Pengaruh masa simpan madu kelulut (*Trigona* sp.) terhadap kadar gula pereduksi dan keasaman. *J Sylva Sci*. 2019;2(6):1094–9. DOI: 10.20527/jss.v2i6.1908
  30. Hasan AEZ, Andrianto D, Rahmania A, Ahmada IGC, Abdillah RM. Effect of heating on flavonoid concentration in honey harvested from across Indonesian archipelago. *Pharmacologyonline*. 2021;3:615–23. DOI: 10.35799/cp.13.2.2020.31594
  31. Savitri NPT, Hastuti ED, Suedy SWA. Kualitas Madu Lokal dari Beberapa Wilayah di Kabupaten Temanggung. *Bul Anat dan Fisiol*. 2017;2(1):58. DOI: 10.14710/baf.2.1.2017.58-66
  32. Harjo SST, Radiati LE, Rosyidi D. Perbandingan madu karet dan madu rambutan berdasarkan kadar air, aktivitas enzim diastase dan hidroximetilfurfural (HMF). *J Ilmu dan Teknol Has Ternak*. 2015;10(1):18–21. DOI: 10.21776/ub.jitek.2015.010.01.3
  33. Hakim S, Siswandi, Wahyuningtyas R, Rahmanto B, W H, F Lestari. Sifat fisikokimia dan kandungan mikronutrien pada madu kelulut (*Heterotrigona itama*) dengan warna berbeda. *J Penelit Has Hutan*. 2021;39(1):1–12. DOI: 10.20886/jphh.2021.39.1.1-12
  34. Rio DH, Dasir. Studi berbagai jenis bahan pengembang terhadap reabsorpsi tekwan kering ikan gabus. *Edible*. 2017;6(1):36–45. DOI: 10.32502/jedb.v6i1.630
  35. Chuttong B, Chanbang Y, Sringarm K, Burgett M. Physicochemical profiles of stingless bee (*Apidae: Meliponini*) honey from South East Asia (Thailand). *Food Chem*. 2016;192:149–55. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.06.089
  36. Pratama F, Malahayati N, Santoso B, E E. Sifat fisik dan kimia madu dari nektar pohon karet di Kabupaten Bangka Tengah, Indonesia. *Agritech*. 2017;37(4):363–8. DOI: 10.22146/agritech.16424
  37. Suhartini EA, Moechtar J, Darmawati A. Mutu produk madu yang dijual di Surabaya. *J Farm dan Ilmu Kefarmasian Indones*. 2018;5(1):45. DOI: 10.20473/jfiki.v5i1.2018.45-55
  38. Rahmawati A, Supartono, Cahyono E. Kandungan kimia dan potensi beberapa jenis tepung ubi jalar pada pembuatan roti. *Indones J Chem Sci*. 2015;4(1):6–10. DOI: 10.15294/ijcs.v4i1.4757
  39. Anggraeni OC, Widyawati PS, Budianta TDW. Pengaruh konsentrasi madu terhadap sifat fisikokimia dan sifat organoleptik minuman beluntas-teh hitam dengan perbandingan 25:75% (b/b). *J Teknol Pangan dan Gizi*. 2016;15(1):30–5. DOI: 10.33508/jtpg.v15i1.1528
  40. Okeola F, Oluade O, Liad M. Stingless bee honey as bio-indicator of heavy metals pollution in and around the University of Ilorin Environ Kwara State, Nigeria. *J Appl Sci Environ Manag*. 2020;24(5):773–8. DOI: 10.4314/jasem.v24i5.7
  41. Sujanto ISR, Ramly NS, Ghani AA, Huat JTY, Alias N, Ngah N. Composition and functional properties of stingless bee honey: A review. *Malaysian J Appl Sci*. 2021;6(1):111–27. DOI: 10.37231/myjas.2021.6.1.281
  42. Istiani NA. Analisis kualitas madu yang beredar di kota Semarang berdasarkan parameter massa jenis, indeks bias, dan tegangan permukaan. *Universitas Islam Negeri Walisongo*; 2018.