

# ***The Effect of Multiflora Honey and Bee Pollen from European Honey Bees (*Apis mellifera*) in Inhibiting the Growth of *Propionibacterium acnes****

## **[Pengaruh Madu Multiflora dan Bee Pollen dari Lebah Madu Eropa (*Apis mellifera*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Propionibacterium acnes*]**

Vita Wardah Nur Jannah<sup>1)</sup>, Chylen Setiyo Rini<sup>2)\*</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

<sup>2)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

\*Email Penulis Korespondensi: chylensetiyorini@umsida.ac.id

**Abstract.** Acne is a skin condition in which pores become clogged with oil and dead skin cells, as well as the activity of *P.acnes* bacteria. Multiflora honey and bee pollen are bee products that contain bioactive compounds and have antibacterial properties. This study used the disk diffusion technique with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% for honey and bee pollen, as well as combinations with ratios of 1MM:3BP, 1MM:1BP, 3MM:1BP, tetracycline as the positive control, and distilled water as the negative control. The results showed that honey, bee pollen, and their combinations have antibacterial potential against the growth of *P.acnes*. Multiflora honey and bee pollen exhibited the strongest inhibition at a concentration of 100% (27.71 mm and 18.26 mm) and the combination at a concentration of 3MM:1BP (29.81 mm). The combination treatment at a concentration of 3MM:1BP was more effective than the other sample concentrations tested.

**Keywords** - Antibacterial activity, Multiflora Honey, Bee Pollen, *Propionibacterium acnes*

**Abstrak.** Jerawat adalah kondisi kulit di mana pori-pori tersumbat oleh minyak dan sel kulit mati, serta aktivitas bakteri *P.acnes*. Madu multiflora dan bee pollen merupakan produk lebah yang mengandung senyawa bioaktif dan memiliki sifat antibakteri. Penelitian ini menggunakan teknik difusi cakram dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% untuk madu dan bee pollen, serta kombinasi dengan perbandingan 1MM:3BP, 1MM:1BP, 3MM:1BP, tetrasiklin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Hasil menunjukkan bahwa madu, bee pollen, dan kombinasinya memiliki potensi antibakteri terhadap pertumbuhan *P.acnes*. Madu multiflora dan bee pollen memiliki penghambatan terkuat pada konsentrasi 100% (27,71 mm dan 18,26 mm) dan kombinasi pada konsentrasi 3MM:1BP (29,81 mm). Perlakuan kombinasi konsentrasi 3MM:1BP lebih efektif dibandingkan konsentrasi jenis sampel uji lainnya.

**Kata Kunci** - Aktivitas antibakteri, Madu Multiflora, Bee Pollen, *Propionibacterium acnes*

## I. PENDAHULUAN

Di Indonesia kondisi kulit seringkali menjadi perhatian utama dalam persepsi sosial. Kondisi kulit yang sehat dan cerah sering menjadi tolok ukur kesehatan dan daya tarik visual yang penting. Kulit berfungsi sebagai penghalang fisik utama yang mencegah invasi berbagai patogen [1]. Kulit yang tidak terawat dengan baik dapat memicu terjadinya penyakit dan gangguan pada kulit termasuk penyakit infeksi kulit. Gangguan pada kulit dapat memicu infeksi, dipengaruhi oleh integritas kulit, sistem imun, mikroorganisme, alergi, faktor lingkungan, dan personal higenis [2].

*Acne vulgaris* atau jerawat adalah salah satu penyakit kulit yang sering dialami oleh remaja sejak masa pubertas dini hingga dewasa dengan tingkat keparahan yang bervariasi. Prevalensi penderita jerawat di Indonesia sekitar 80-85% dikalangan remaja, dengan puncaknya terjadi pada usia 15-18 tahun. Meskipun demikian, penderita jerawat juga ditemukan pada kelompok usia dewasa dengan persentase yang lebih rendah yaitu 12% pada usia >25 tahun dan 3% pada usia 35-44 tahun. Jerawat terbentuk akibat penyumbatan pori-pori oleh sebum dan sel kulit mati sehingga memicu pembentukan komedo, papula, pustula, dan nodul [3]. Produksi sebum atau minyak yang berlebih dipengaruhi hormon androgen dan keratinisasi, serta aktivitas bakteri *Propionibacterium acnes* menyebabkan peradangan atau inflamasi pada kulit [4].

Pencegahan jerawat melibatkan gaya hidup sehat dan perawatan kulit. Sebagian besar obat jerawat yang beredar di pasaran mengandung antibiotik sintetis seperti klindamisin, tetrasiklin, dan eritromisin. Mekanisme kerja obat-obatan ini adalah menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat dengan cara mengikat reseptor sel atau menghambat enzim tertentu [5]. Namun, penggunaan jangka panjang antibiotik sintetis dapat menimbulkan efek samping seperti iritasi kulit, resistensi antibiotik, kerusakan organ, dan bahkan reaksi alergi. Oleh karena itu,

eksplorasi bahan alami sebagai alternatif pengobatan jerawat yang efektif dan aman perlu diperlukan [6]. Pada umumnya pengobatan jerawat sering dilakukan secara tradisional menggunakan bahan alami yang memiliki sifat antibakteri. Bahan alami yang berasal dari tumbuhan serta produk hewani seringkali diformulasikan untuk perawatan kulit berjerawat. Salah satu bahan alami yang digunakan untuk mengatasi jerawat adalah produk turunan lebah. Produk turunan lebah seperti madu dan bee pollen dikenal karena sifat antibakteri, antioksidan, antijamur, dan antivirus. Produk turunan lebah efektif dalam penyembuhan luka dan mengurangi risiko infeksi karena adanya senyawa fenolik yang terkandung di dalamnya [7].

Madu merupakan hasil olahan lebah yang dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis bunga yang menjadi sumber nektarnya. Keberagaman jenis madu mempengaruhi komposisi, rasa, aroma, dan tampilan fisik madu, tergantung pada sumber nektar dan faktor eksternal seperti lokasi geografis, iklim, serta pakan lebah [8]. Madu multiflora adalah salah satu jenis madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* dari nektar berbagai jenis tumbuhan. Lebah *Apis mellifera* adalah salah satu jenis lebah yang banyak dibudidayakan terutama di Indonesia karena kemampuan daya adaptasi dan produktivitas madu yang tinggi serta sifatnya yang cenderung tidak agresif [9]. Madu adalah produk alami kaya nutrisi seperti vitamin dan mineral yang bermanfaat bagi kesehatan dan kecantikan serta memiliki sifat antimikroba yang bersifat bakterisidal dan bakteriostatik [10]. Madu multiflora mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan dan saponin dengan aktivitas antibakteri. Penelitian sebelumnya [11] menunjukkan bahwa madu multiflora dapat menghambat bakteri *Salmonella thypi* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 50%.

Bee pollen merupakan serbuk sari bunga yang dikumpulkan lebah pekerja yang dicampur nektar atau sekresi kelenjar ludah lebah. Kandungan bee pollen bervariasi sesuai jenis tanaman asalnya, kaya akan vitamin, karbohidrat, dan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan [7]. Serbuk sari menjadi sumber protein utama bagi lebah untuk mendukung koloni dan memberi makan larva [12]. Bee pollen memiliki bentuk yang beragam mulai dari bulat hingga bersudut dengan tekstur halus atau kering [13]. Bee pollen kaya antioksidan seperti polifenol, flavonoid, karotenoid, dan vitamin [14]. Kandungan nutrisinya bervariasi tergantung jenis tanaman, lingkungan, musim panen, dan asal geografisnya [15]. Asam fenolik dan flavonoid dalam bee pollen memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak membran sitoplasma bakteri [16]. Kandungan bioaktif ini memberikan bee pollen beragam sifat biologis, termasuk potensi antioksidan, hipoglikemik, anti inflamasi, antibakteri, dan antikanker [56]. Penelitian sebelumnya [17] menunjukkan bahwa bee pollen lebah kelulut memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri *P. acnes* dengan penghambatan terkuat pada konsentrasi 42% yaitu 500 µg/well. Adanya aktivitas daya hambat ini disebabkan oleh konsentrasi ekstrak bee pollen yang mengandung senyawa antibakteri.

Penambahan bee pollen pada madu meningkatkan kandungan fenolik terutama flavonoid dan asam fenolik, meskipun dapat menurunkan kualitas sensorik madu seperti warna, kejernihan, dan aroma [18]. Madu dan bee pollen dapat menjadi solusi potensial dalam mengatasi permasalahan perubahan flora bakteri normal menjadi patogen. Kandungan antibakteri yang terdapat dalam madu dan bee pollen menunjukkan potensi untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen [19].

Penelitian tentang bee pollen pada lebah *A. mellifera* untuk aktivitas biologinya masih terbatas, terkhususnya untuk anti acne (jerawat) belum ada yang melaporkan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian tentang efektivitas madu multiflora dan bee pollen dari lebah eropa (*A. mellifera*) dalam menghambat pertumbuhan *P. acnes* perlu dilakukan.

## II. METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental laboratorium dengan teknik disk diffusion *Kirby-Bauer* untuk melihat pengaruh ekstrak madu multiflora dan bee pollen lebah *Apis mellifera* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* dengan mengamati terjadinya zona hambat yang terjadi. Populasi yang digunakan adalah madu multiflora dan bee pollen yang diperoleh dari peternak lebah “Wisata Petik Madu” di Lawang, Malang. Sampel yang digunakan adalah madu dan bee pollen dari tanaman multiflora yang dikumpulkan oleh lebah *Apis mellifera*. Bakteri *Propionibacterium acnes* berasal dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Surabaya.

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Mei 2025 dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Uji Fitokimia dan Uji Kadar Air Madu dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA, Universitas Negeri Surabaya. Uji Kadar Abu, Uji Hydroxymethylfurfural (HMF) dan Uji Gula Pereduksi dilakukan di Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Surabaya. Penelitian ini telah lulus uji etik di FKG, Universitas Airlangga Surabaya dengan Nomor: 0500/HRECC.FODM/IV/2025.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beaker, tabung reaksi, erlenmeyer, inkubator, petridisk, spektfotometer, ose, autoklaf, batang pengaduk, bunsen, neraca analitik, rak tabung, pipet ukur, bulb, pipet ukur dan gelas ukur. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan madu multiflora, bee pollen, aquades, bakteri *P. acnes*, blank disk, media MHA, media BAP, media NA, NaCl 0,9%, *Mac Farland* 0,5, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, dan BaCl<sub>2</sub>.

Penelitian ini diawali dengan pembuatan konsentrasi larutan madu, bee pollen, dan kombinasi serta kontrol positif dan negatif. Konsentrasi madu dan pollen yang digunakan adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%. Sedangkan untuk kombinasi madu multiflora dan bee pollen dengan perbandingan 1MM:3BP, 1MM:1BP, 3MM:1BP. Kontrol positif dalam pengujian ini menggunakan antibiotik tetrasiklin dan kontrol negatif aquades steril. Pengulangan sampel

dihitung dengan rumus Federer yaitu dengan hasil tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasinya. Pembuatan variasi konsentrasi jenis sampel menggunakan metode pengenceran induk dengan aquades steril sebagai pelarut.

Bakteri *Propionibacterium acnes* yang akan digunakan sebelumnya diremajakan dahulu pada media NA. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan pengambilan koloni bakteri dari media NA menggunakan ose dan disuspensikan di dalam tabung yang berisi 7 ml larutan NaCl 0,9% steril. Kekeruhan suspensi bakteri uji dibandingkan dengan kekeruhan *Mac Farland* 0,5 dan diukur pada spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 600 nm [20]. Nilai absorbansi 0,08-0,1 setara dengan standar *Mac Farland* 0,5 ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) [21]. Suspensi bakteri kemudian ditanamkan pada media uji Mueller Hinton Agar (MHA) menggunakan kapas swab steril. Kemudian kertas cakram yang mengandung tiap konsentrasi madu, bee pollen, dan kombinasinya serta kontrol positif dan kontrol negatif dilitekkan pada media uji. Tekan perlahan kertas cakram untuk memastikan kertas cakram menempel pada permukaan media MHA. Cawan kemudian ditutup menggunakan *cling wrap*, selanjutnya media uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah selesai proses inkubasi dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar cakram menggunakan jangka sorong. Interpretasi zona hambat dilakukan berdasarkan acuan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2022 yaitu zona hambat dikategorikan resisten dengan diameter  $\leq 14$  mm, intermediet dengan diameter zona hambat 15-19 mm dan sensitif  $\geq 20$  mm [22].

Data hasil uji daya hambat bakteri yang diperoleh dianalisis secara parametrik menggunakan uji statistik Anova two way dengan software IBM SPSS Statistics 27.0 dengan taraf kepercayaan 95% atau  $\alpha = 0,05$ . Uji statistik Anova two way digunakan untuk menentukan pengaruh signifikan terhadap kelompok perlakuan. Apabila nilai  $p < 0,05$ , maka dilakukan uji lanjut Post Hoc Duncan untuk melihat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Uji Standarisasi Madu

Mutu madu di Indonesia distandardisasi berdasarkan SNI untuk melindungi konsumen meliputi sifat sensorik dan fisikokimia. Parameter standar yang diuji pada penelitian madu multiflora adalah kadar air, kadar abu, gula pereduksi, pH, dan hidroksimetilfurfural (HMF). Hasil analisis disajikan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Analisis Kualitas Madu

No	Parameter	Syarat SNI 8664:2018	Hasil
1.	Kadar Air	Maks 22%	10,5%
2.	Kadar Abu	Maks 0,5%	1,4%
3.	Gula Pereduksi	Min 65%	43,24%
4.	Hidroksimetilfurfural (HMF)	Maks 40 mg/kg	40,8 mg/kg
5.	pH	3,4 – 4,3	4

Hasil uji kadar air tercantum pada **Tabel 1**. Kadar air madu multiflora (10,5%) memenuhi standar SNI 8664:2018 kadar air yang terkandung pada madu memiliki nilai maksimal 22%. Kadar air berfungsi sebagai pelindung dari fermentasi dan indikator kualitas yang dipengaruhi kondisi lingkungan (cuaca, kelembapan, dan sarang), nektar, perlakuan ekstraksi, metode penyimpanan, dan usia panen [23][24]. Suhu yang rendah dapat mempertahankan kadar air yang rendah sehingga melindungi madu dari kerusakan, memperpanjang masa simpan dan meminimalkan pertumbuhan mikroba [25]. Selain itu madu yang diperoleh pada usia yang lebih tua memiliki kadar air yang lebih rendah dibandingkan madu yang diperoleh saat usia lebih muda. Hal ini karena semakin lama madu berada di dalam sarang lebah, penguapan kadar air akan berlangsung semakin sempurna [26].

Kadar abu madu multiflora menunjukkan 1,4% melebihi batas SNI madu yaitu dengan nilai maksimal 0,5%. Hal ini menunjukkan bahwa madu multiflora mengindikasikan adanya kandungan mineral yang lebih tinggi. Kadar abu menunjukkan kandungan mineral dari nektar dan pollen yang beragam sesuai sumbernya. Madu multiflora cenderung memiliki kadar mineral tinggi seringkali ditunjukkan dengan warna yang lebih gelap. Meskipun tingginya kadar mineral mengindikasikan kualitas, kadar berlebihan tidak disarankan dan bisa disebabkan oleh proses pengolahan yang kurang tepat. Pengolahan madu yang kurang tepat seperti teknik pemerasan manual dengan tangan yang sering kali menyebabkan kontaminasi karena kurangnya perhatian terhadap kebersihan madu [24].

Gula pereduksi adalah gula yang dihasilkan lebah dan mampu mereduksi senyawa lain. Penentuan kadar gula pereduksi menggunakan metode Luff Schoorl, berdasarkan reduksi ion  $Cu^{2+}$  menjadi  $Cu^{+}$  oleh gula seperti glukosa dan fruktosa [26]. Kadar gula pereduksi madu multiflora yaitu 43,24% berada di bawah standar SNI dengan minimal kadar sebesar 65%. Rendahnya kadar madu dapat disebabkan oleh pencampuran dengan gula non-lebah (gula tebu), kelembapan, suhu penyimpanan, dan masa panen yang terlalu dini. Panen madu yang terlalu dini atau saat madu belum matang dapat menghambat proses inversi oleh enzim amilase, sehingga mengurangi kadar enzim diastase yang berperan mengonversi sukrosa menjadi gula sederhana [27]. Fermentasi dan peningkatan kadar HMF akibat keasaman dan suhu tinggi juga dapat menyebabkan kadar gula madu rendah [28]. Madu yang disimpan pada suhu ruang cenderung memiliki kadar gula pereduksi lebih rendah dibandingkan madu suhu dingin [26].

Pengujian kadar HMF adalah indikator penting kualitas dan kesegaran madu, melibatkan pereaksi seperti larutan Carrez I dan II yang berfungsi untuk mengendapkan protein, serta natrium bisulfit digunakan sebagai pembanding [29]. Kadar HMF dipengaruhi oleh pH, suhu, durasi pemanasan, kondisi penyimpanan, dan sumber nektar. HMF terbentuk dari dekomposisi monosakarida akibat pemanasan atau penyimpanan dalam kondisi asam dan suhu tinggi [30]. Oleh karena itu, kadar HMF yang rendah umumnya mengindikasi sedikitnya penambahan gula invert serta menunjukkan kualitas bahwa madu masih segar. Berdasarkan **Tabel 1** hasil uji HMF pada madu multiflora yaitu 40,8 mg/kg, sedikit melebihi batas SNI 8664:2018 yaitu dengan batas maksimum 40 mg/kg. Hal ini mengindikasikan madu telah mengalami proses pemanasan atau penyimpanan yang cukup lama [24]. Meskipun demikian, nilai kadar HMF madu multiflora masih dalam rentang yang tidak terlalu tinggi dibandingkan madu yang mengalami pemanasan ekstrem atau penyimpanan yang sangat buruk.

Berdasarkan pengujian pH madu pada **Tabel 1** madu multiflora memiliki pH 4 yang memenuhi standar mutu berdasarkan SNI madu yang berkisar antara 3,4 hingga 4,3. Tingkat keasaman madu yang rendah disebabkan oleh keberadaan asam organik seperti glukonat yang memberikan madu memiliki kemampuan sebagai antibakteri [31]. Kadar mineral dalam madu juga dapat mempengaruhi tingkat keasaman (pH) madu. pH madu yang rendah akan menghambat metabolisme bakteri gram positif dan gram negatif, sehingga dapat menyebabkan lisis pada sel bakteri dan hilangnya viabilitas pertumbuhan bakteri [32]. Jika pH madu berada di luar batas rentang yang telah ditetapkan dapat menyebabkan kualitas madu menjadi kurang baik. Kondisi ini akan mengurangi fungsi keasaman madu dalam melindungi dari kontaminasi mikroorganisme dan berpotensi mempercepat kerusakan madu [33].

### B. Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif yang merupakan uji awal untuk mengidentifikasi senyawa aktif dalam suatu sampel dengan melihat reaksi warna yang terbentuk. Hasil skrining uji fitokimia pada madu multiflora dan bee pollen dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**.

**Tabel 2.** Hasil Fitokimia Madu Multiflora

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil yang terbentuk	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+++
	Wagner	Endapan coklat	+++
	Dragendorf	Endapan jingga	+++
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	++
Saponin	-	Adanya busa stabil	+++
Steroid	Liebermann-Burchard	Ungu ke biruan/hijau	+++
Triterpenoid	Kloroform + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Merah kecoklatan	+++
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1%	Endapan putih	++
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Coklat kehijauan	+++

**Keterangan:**

(+) = Teridentifikasi dengan intensitas lemah

(++)= Teridentifikasi dengan intensitas sedang

(++) = Teridentifikasi dengan intensitas kuat

(-) = Tidak teridentifikasi senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa madu multiflora memiliki kandungan senyawa bioaktif yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian [34] yang menyatakan bahwa madu mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Serta penelitian yang dilakukan oleh [35] bahwa golongan senyawa bioaktif lainnya yang terdapat pada madu yaitu triterpenoid dan fenolik.

Kandungan positif senyawa flavonoid pada madu multiflora menunjukkan intensitas deteksi sedang dengan adanya perubahan warna menjadi merah. Flavonoid sebagai antioksidan berperan dalam menangkal radikal bebas. Pada pengujian senyawa fenolik positif menunjukkan intensitas deteksi sedang dengan terbentuknya endapan putih. Kandungan senyawa fenolik dalam madu berhubungan langsung dengan warna madu, warna madu yang gelap menunjukkan kandungan fenolik dan antioksidannya yang tinggi. Senyawa saponin menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi kuat terbentuknya busa stabil. Saponin adalah glikosida yang memiliki kemampuan membentuk busa atau menghasilkan buih dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya [36]. Senyawa tanin menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi kuat terbentuknya warna coklat kehijauan. Tanin sebagai senyawa polifenol berbobot molekul tinggi dapat membentuk kompleks dengan protein dan menghasilkan warna kehitaman dengan ion logam seperti besi, kalsium, tembaga, dan magnesium. Selain berfungsi sebagai pewarna, tanin juga merupakan antioksidan yang berpotensi mencegah kanker [31]. Uji steroid dan triterpenoid juga menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi kuat. Keberadaan steroid ditandai dengan terbentuknya warna ungu ke biru atau hijau pada uji Liebermann-Burchard, sedangkan triterpenoid menunjukkan warna merah hingga coklat.

Pengujian alkaloid pada sampel madu menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi kuat yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga saat direaksikan dengan pereaksi Dragendorff. Endapan ini terbentuk sebagai hasil reaksi antara elektron bebas nitrogen dalam senyawa alkaloid dengan komponen asam pada pereaksi Dragendorff [36]. Pengujian alkaloid juga dilakukan menggunakan pereaksi mayer dan wagner. Hasil positif menggunakan pereaksi mayer menunjukkan adanya endapan bewarna putih, sedangkan pereaksi wagner adanya endapan bewarna coklat. Beberapa metabolit sekunder termasuk alkaloid dan saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja yang berbeda. Secara umum, senyawa-senyawa ini menghambat pertumbuhan bakteri melalui perusakan permeabilitas membran sel bakteri yang diawali dengan penghambatan pembentukan komponen penyusun dinding sel [37].

**Tabel 3.** Hasil Fitokimia Bee Pollen

<b>Uji Fitokimia</b>	<b>Pereaksi</b>	<b>Hasil yang terbentuk</b>	<b>Kesimpulan</b>
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+++
	Wagner	Endapan coklat	+++
	Dragendorff	Endapan jingga	+++
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	++
Saponin	-	Adanya busa stabil	+++
Steroid	Liebermann-Burchard	Ungu ke biruan/hijau	+
Triterpenoid	Kloroform + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Merah kecoklatan	+
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1%	Endapan putih	+++
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Coklat kehijauan	+++

**Keterangan:**

(+) = Teridentifikasi dengan intensitas lemah

(++)= Teridentifikasi dengan intensitas sedang

(+++) = Teridentifikasi dengan intensitas kuat

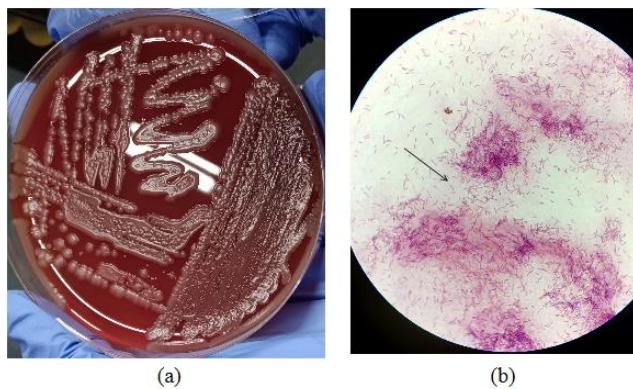
(-) = Tidak teridentifikasi senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa bee pollen memiliki kandungan senyawa bioaktif meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh [17] bahwa golongan senyawa yang terdapat pada bee pollen seperti alkaloid, flavonoid dan tanin. Senyawa flavonoid umumnya ditemukan di berbagai bagian tumbuhan, meliputi biji, buah, benang sari, dan akar. Ekstrak bee pollen setelah diuji menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi sedang. Kandungan senyawa flavonoid pada pollen menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah. Flavonoid sebagai antioksidan berperan dalam menangkal radikal bebas. Berdasarkan penelitian [38] flavonoid memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.acnes*. Pada pengujian senyawa fenolik menunjukkan hasil positif terbentuknya endapan putih dengan intensitas deteksi kuat. Senyawa saponin menunjukkan hasil positif pada bee pollen terbentuknya busa stabil dengan intensitas deteksi kuat. Saponin adalah glikosida yang memiliki kemampuan membentuk busa atau menghasilkan buih dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya [36]. Senyawa tanin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna coklat kehijauan. Tanin sebagai senyawa polifenol berbobot molekul tinggi, dapat membentuk kompleks dengan protein dan menghasilkan warna kehitaman dengan ion logam seperti besi, kalsium, tembaga, dan magnesium [34]. Tanin merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* [38]. Uji steroid dan triterpenoid juga menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi lemah. Keberadaan steroid ditandai dengan terbentuknya warna ungu ke biru atau hijau pada uji *Liebermann-Burchard*, sedangkan triterpenoid menunjukkan warna merah hingga coklat.

Pengujian alkaloid pada sampel madu menunjukkan hasil positif dengan intensitas deteksi kuat yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga saat direaksikan dengan pereaksi Dragendorff. Endapan ini terbentuk sebagai hasil reaksi antara elektron bebas nitrogen dalam senyawa alkaloid dengan komponen asam pada pereaksi Dragendorff [36]. Pengujian alkaloid juga dilakukan menggunakan pereaksi mayer dan wagner. Hasil positif menggunakan pereaksi mayer menunjukkan adanya endapan bewarna putih, sedangkan pereaksi wagner adanya endapan bewarna coklat. Alkaloid yang memiliki sifat antibakteri bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel [17]. Kandungan bee pollen secara keseluruhan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jenis sumber tanaman, kondisi lingkungan tempat tumbuh, musim panen sehingga variasi kandungan nutrisinya dapat berbeda-beda tergantung pada asal geografisnya [15].

### C. Identifikasi Bakteri *Propionibacterium acnes*

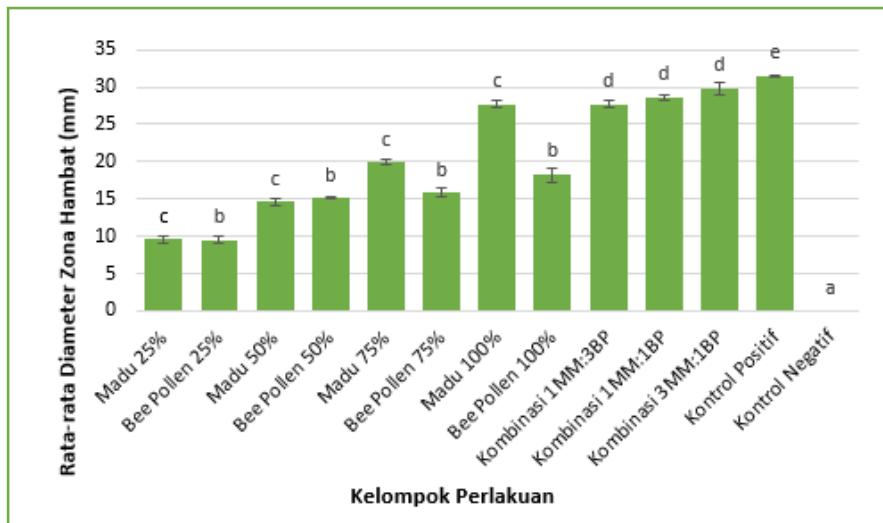
Identifikasi *P. acnes* dilakukan melalui pewarnaan gram dan pengamatan karakteristik koloni pada media Blood Agar Plate (BAP), seperti terlihat pada **Gambar 1**. Isolat menunjukkan koloni berukuran kecil, berwarna putih dan buram, dengan permukaan halus dan konsistensi padat selain itu hemolis yang terbentuk adalah beta hemolis (Gambar 1a). Hemolis beta ( $\beta$ -hemolis) adalah pemecahan sel darah merah secara lengkap atau penuh yang terjadi pada media BAP di sekitar koloni bakteri yang tumbuh. Setelah pewarnaan gram dan pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 100x, *P. acnes* menunjukkan karakteristik gram positif berbentuk batang (basil), berwarna ungu (Gambar 1b). Hasil ini sesuai dengan penelitian [39] yang menyatakan bahwa *P. acnes* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dengan koloni berbentuk bulat, berwarna putih sedikit buram dan hemolis yang terbentuk adalah beta hemolis. Bakteri gram positif mempertahankan pewarna utama gentian violet karena dinding selnya yang tebal dengan kandungan peptidoglikan tinggi, yang mampu mengikat zat warna dan tidak luntur saat dicuci alkohol.



**Gambar 1.** Hasil Karakteristik Bakteri Uji (a) Hasil penanaman bakteri *P.acnes* pada media selektif BAP  
(b) Hasil pewarnaan gram bakteri *P.acnes* dan pengamatan mikroskop pada perbesaran 100x

### D. Uji Antibakteri

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri madu, pollen serta kombinasinya terhadap bakteri *P. acnes* diperoleh hasil yang menunjukkan terdapatnya zona hambat. Berikut diagram peningkatan konsentrasi dengan diameter zona hambat (gambar 2). Hasil zona hambat dapat dilihat pada **Tabel 4**.



**Gambar 2.** Rata-rata Diameter Zona Hambat Bakteri *P. acnes* pada Pemberian Madu, Bee pollen, dan Kombinasinya. Notasi huruf merupakan hasil dari uji Duncan, jika notasi huruf berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata berdasarkan jenis sampel.

**Tabel 4.** Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Madu, Bee Pollen, serta Kombinasinya

Zat Uji	Konsentrasi (%)	Perhitungan Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± SD	Keterangan
		I	II	III		
Madu Multiflora	25	9	9,8	10	9,60 <sup>b</sup> ± 0,43	R
	50	14,5	14	15,3	14,60 <sup>c</sup> ± 0,54	R
	75	20	20,36	19,36	19,91 <sup>f</sup> ± 0,41	I
	100	28,1	28	27,02	27,71 <sup>g</sup> ± 0,49	S
Bee Pollen	25	9,6	9	10	9,53 <sup>b</sup> ± 0,41	R
	50	15	15	15,4	15,13 <sup>c</sup> ± 0,19	I
	75	15	16	16,4	15,80 <sup>cd</sup> ± 0,59	I
	100	17,21	18	19,56	18,26 <sup>e</sup> ± 0,98	I
MM:BP	1:3	27,72	28,2	27	27,64 <sup>g</sup> ± 0,49	S
	1:1	28,85	28	29	28,62 <sup>g</sup> ± 0,44	S
	3:1	30,67	29,97	28,8	29,81 <sup>h</sup> ± 0,77	S
Kontrol Positif (+)	Tetrasiklin	31,67	31,26	31,49	31,47 <sup>i</sup> ± 0,17	S
Kontrol Negatif (-)	Aquades	0	0	0	0 <sup>a</sup>	R

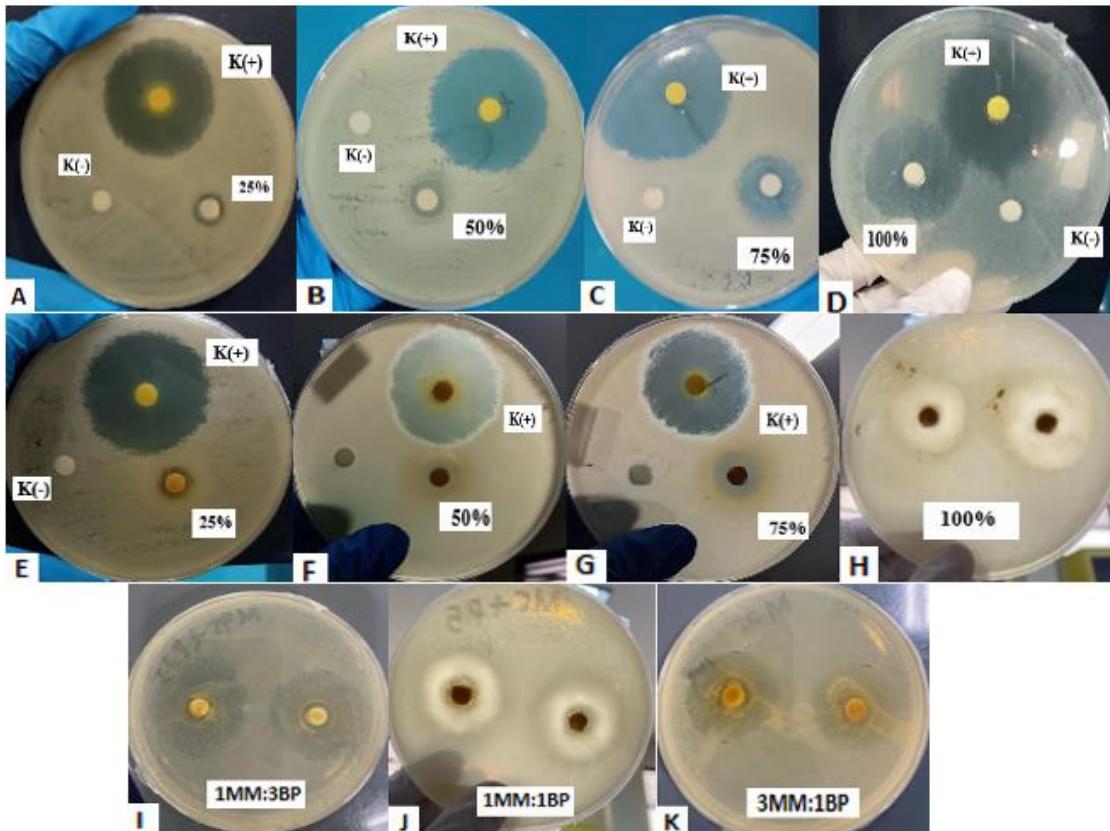
**Keterangan:** Notasi huruf yang terletak di belakang angka merupakan hasil dari uji Duncan, jika memiliki notasi huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata dan bila notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata. R:Resisten, I: Intermediat, dan S: Sensitif.

Uji efektivitas antibakteri madu dan bee pollen dapat dilakukan menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*. Keunggulan metode ini terletak pada kemudahannya karena tidak memerlukan peralatan khusus dan memiliki fleksibilitas yang besar. Dalam pengujian ini, Mueller Hinton Agar (MHA) digunakan sebagai media karena sifatnya yang netral sehingga tidak mempengaruhi prosedur pengujian. Selain itu, MHA memiliki kandungan nutrisi yang optimal untuk pertumbuhan kultur bakteri [40].

Data hasil pengukuran zona hambat yang diperoleh kemudian dilakukan uji statistik untuk melihat nilai signifikansi dari hasil tersebut. Berdasarkan uji analisa data menggunakan uji *Anova two way*. Data sebelumnya dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai signifikansi  $p=0,552$  menunjukkan bahwa persebaran data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi  $p>0,05$ . Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi  $p=0,091$  menunjukkan varian data homogen ( $p>0,05$ ). Selanjutnya analisis statistik dilakukan dengan uji *Anova two way* untuk mengetahui adanya perbedaan pemberian berbagai konsentrasi madu, bee pollen, serta kombinasi keduanya terhadap rerata diameter zona hambat. Hasil menunjukkan setiap perlakuan diperoleh nilai signifikansi  $p = 0,001$  ( $p<0,05$ ) sehingga jenis sampel dan variasi konsentrasi berpengaruh terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *P.acnes*. Data hasil uji *Anova two way* kemudian dilanjutkan ke uji Duncan. Uji Duncan dilakukan untuk mengetahui beda nyata antar kelompok perlakuan. Berdasarkan uji Duncan menunjukkan bahwa pada masing-masing jenis sampel memiliki perbedaan nyata dengan perlakuan lainnya. Pada uji Duncan, kontrol positif menunjukkan perbedaan nyata karena menghasilkan aktivitas antibakteri terbesar terhadap bakteri uji dibandingkan dengan kontrol negatif dan variasi konsentrasi uji lainnya.

Uji Duncan terhadap diameter zona hambat bakteri *P. acnes* menunjukkan bahwa setiap kombinasi konsentrasi dan jenis sampel menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda nyata. Madu dan bee pollen pada konsentrasi 25% menunjukkan bahwa kedua sampel tidak memiliki perbedaan nyata dan memiliki efektivitas lebih rendah dibandingkan konsentrasi lainnya. Madu 50% dan bee pollen 50% tidak menunjukkan perbedaan nyata dan mengindikasikan peningkatan efek antibakteri secara signifikan. Konsentrasi bee pollen 50% menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata dengan bee pollen konsentrasi 75%. Serta konsentrasi madu 100% menunjukkan tidak ada perbedaan nyata dengan konsentrasi kombinasi 1MM:3BP dan konsentrasi kombinasi 1MM:1BP. Tidak adanya perbedaan nyata menunjukkan bahwa pada kelompok konsentrasi memiliki efek yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Konsentrasi bee pollen 100%, madu 75%, dan kombinasi 3MM:1BP menunjukkan perbedaan nyata terhadap diameter zona hambat. Hal ini berarti konsentrasi setiap sampel tersebut telah menunjukkan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Berdasarkan hasil uji zona hambat madu, bee pollen serta kombinasi memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *P.acnes*. Uji Pos Hoc Duncan

menunjukkan kombinasi antara madu dan bee pollen pada konsentrasi 3MM:1BP memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan konsentrasi jenis sampel uji lainnya.



**Gambar 3.** Uji Efektivitas Antibakteri Madu Multiflora, Bee Pollen dan Komboinasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *P.acnes*. Gambar A-D: Uji Efektivitas Antibakteri Madu Multiflora dengan berbagai Konsentrasi. Gambar E-H: Uji Efektivitas Antibakteri Bee Pollen dengan berbagai Konsentrasi. Gambar I-K: Uji Efektivitas Antibakteri Perlakuan Kombinasi dengan berbagai Konsentrasi

**Tabel 4.** menunjukkan madu multiflora memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal tersebut terlihat pada diameter zona hambat yang dihasilkan pada **Gambar 3**. Madu multiflora memiliki zona hambat pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona bening 27,71 mm termasuk dalam kategori kuat (sensitif), konsentrasi 75% memiliki nilai rata-rata 19,91 mm termasuk dalam kategori sedang (intermediat), konsentrasi 50% memiliki nilai rata-rata 14,60 mm termasuk dalam kategori lemah (resisten) dan konsentrasi 25% memiliki nilai rata-rata 9,60 mm termasuk dalam kategori lemah (resisten). Konsentrasi 25% merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan konsentrasi terendah yang rata-rata diameternya 9,60 mm dan konsentrasi 100% merupakan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan rata rata diameternya 27,71 mm. Secara umum, diameter zona hambat cenderung meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak dan berlaku pula sebaliknya. Hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh [41] dimana konsentrasi madu yang tinggi menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh [42] yang meneliti tentang uji aktivitas antibakteri madu lebah hutan terhadap pertumbuhan bakteri *P.acnes* yang menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 100% dengan kategori kuat (sensitif).

Viskositas madu yang tinggi berperan sebagai penghalang fisik dan memberikan perlindungan terhadap infeksi bakteri. Selain itu, konsentrasi gula yang tinggi dalam madu mempengaruhi sifat osmolaritas, sehingga secara efektif menghambat proliferasi mikroba. Aktivitas antibakteri madu merupakan hasil kontribusi berbagai faktor yang bekerja secara tunggal maupun sinergis. Komponen-komponen ini seperti hidrogen peroksida, senyawa fenolik, pH rendah, tekanan osmotik, serta kadnauungan fitokimia lain pada madu. Madu secara khusus menunjukkan aktivitas antimikroba yang berkaitan dengan produksi hidrogen peroksida, yang dihasilkan dari transformasi glukosa oleh enzim glukosa oksidase. Tingkat produksi hidrogen peroksida ini bervariasi bergantung pada kadar enzim dan sumber bunga asal madu [43].

Berdasarkan hasil penelitian pada **Tabel 4**, menunjukkan bee pollen menunjukkan aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal tersebut terlihat pada diameter zona hambat yang dihasilkan pada **Gambar 3**. Bee pollen memiliki zona hambat pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona bening 18,26 mm termasuk dalam kategori sedang (intermediate), konsentrasi 75% memiliki nilai rata-rata 15,80 mm termasuk dalam kategori sedang (intermediat), konsentrasi 50% memiliki nilai rata-rata 15,13 mm termasuk dalam kategori sedang (intermediat) dan konsentrasi 25% memiliki nilai rata-rata 9,53 mm termasuk dalam kategori lemah (resisten). Konsentrasi 25% merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan konsentrasi terendah yang rata-rata diameternya 9,53 mm dan konsentrasi 100% merupakan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan rata rata diameternya 18,26 mm. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya [17] bahwa bee pollen memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri *P.acnes*. Asam fenolik dan flavonoid dalam bee pollen memiliki kemampuan antibakteri dengan mendegradasi membran sitoplasma bakteri yang menyebabkan hilangnya ion kalium dan inisiasi autolisis sel [16]. Rendahnya aktivitas antibakteri pada bee pollen meskipun memiliki profil fitokimia yang serupa dengan madu menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba bersifat spesifik terhadap jenis fitokimia tertentu atau bergantung pada konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa bee pollen mungkin tidak mengandung senyawa antimikroba spesifik yang ditemukan dalam madu atau jika ada konsentrasi sangat rendah sehingga tidak efektif menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji. Perbedaan dalam proses pascapanen dan penyimpanan antara madu dan bee pollen juga dapat berpengaruh pada variasi bioaktivitas [44].

Pada pengujian antibakteri kombinasi antara madu multiflora dan bee pollen pada **Gambar 3** menunjukkan aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* dengan kombinasi perbandingan 1MM:3BP, 1MM:1BP, 3MM:1BP. Hal tersebut terlihat pada diameter zona hambat yang dihasilkan. **Tabel 4** menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 1MM:3BP memiliki zona hambat pada dengan rata-rata diameter zona bening 27,64 mm termasuk dalam kategori kuat (sensitif), konsentrasi 1MM:1BP memiliki nilai rata-rata 28,62 mm termasuk dalam kategori kuat (sensitif), dan konsentrasi 3MM:1BP memiliki nilai rata-rata 29,81 mm termasuk dalam kategori kuat (sensitif). Pada pengujian antibakteri kombinasi antara madu dan pollen memiliki daya hambat sangat kuat. Hal ini sesuai dengan studi [18] bahwa penambahan bee pollen pada madu secara signifikan meningkatkan kandungan fenolik, terutama flavonoid seperti kaempferol dan asam fenolik seperti asam galat sehingga memiliki kandungan yang tinggi antioksidan dan antiradikal.

Pada **Tabel 4** kontrol positif menggunakan antibiotik tetrasiklin menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 31,47 mm kategori kuat (sensitive). Tetrasiklin adalah antibiotik yang bersifat bakteriostatik yaitu kemampuan untuk menghambat sintesis protein bakteri [45]. Tetrasiklin sebagai agen antimikroba dikategorikan sensitif apabila memiliki zona hambat dengan diameter  $\geq 15$  mm, intermediet 12–14 mm, dan resistensi pada  $\leq 11$  mm [40]. Sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades steril dan menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri. Hal ini disebabkan karena aquades tidak memiliki senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes*.

Berdasarkan hasil tersebut bahwa madu multiflora, bee pollen serta kombinasinya mempunyai potensi sebagai antimikroba yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat dan daya bunuh bakteri pada ketiga sampel terhadap bakteri *P. acnes* dengan konsentrasi madu dan bee pollen 25%, 50%, 75% dan 100% serta kombinasi perbandingan 1MM:3BP, 1MM:1BP, dan 3MM:1BP.

#### IV. SIMPULAN

Produk turunan lebah madu dan bee pollen memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Madu multiflora mempunyai aktivitas antibakteri paling besar yaitu 27,71 mm pada konsentrasi 100%. Bee pollen memiliki zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% yaitu 18,26 mm. Kombinasi lebih efektif menghambat bakteri *P.acnes* pada perbandingan konsentrasi 3MM:1BP yaitu dengan diameter zona hambat 29,81. Diameter zona hambat madu multiflora terhadap *P.acnes* sebesar 27,71 termasuk kategori kuat (sensitif), diameter bee pollen sebesar 18,26 dengan kategori sedang (intermediate), dan kombinasi yaitu 29,81 dengan kategori kuat (sensitif). Hasil analisis data statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara sampel madu, bee pollen dan kombinasi terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada petugas laboratorium dan rekan kerja serta sivitas akademik Prodi Teknologi Laboratorium Medis FIKES UMSIDA dan semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini.

## REFERENSI

- [1] N. W. Fitriyani and S. Murlisyarini, "Tinjauan Literatur: Mikrobiom pada Kulit dalam Perspektif Dermatologi," *Maj. Kesehat.*, vol. 9, no. 2, pp. 109–120, Jun. 2022, doi: 10.21776/majalahkesehatan.2022.009.02.7.
- [2] D. D. Putri, M. T. Furqon, and R. S. Perdana, "Klasifikasi Penyakit Kulit pada Manusia Menggunakan Metode Binary Decision Tree Support Vector Machine (BDTSVM)," *J. Pengemb. Teknol. Inf. dan Ilmu Komput.*, vol. 2, no. 5, pp. 1912–1920, 2019.
- [3] N. Sifatullah and Zulkarnain, "Jerawat (*Acne vulgaris*): Review Penyakit Infeksi pada Kulit," *Pros. Biol. Achiev. Sustain. Dev. Goals with Biodivers. Confronting Clim. Chang.*, pp. 19–23, 2021, [Online]. Available: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>
- [4] N. K. Jusuf, I. B. Putra, and A. D. P. Rangkuti, "Assessing Acne Severity: Teledermatology Versus Face to Face Consultations During the COVID-19 Pandemic," *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, vol. 16, no. 1, pp. 30–34, 2023.
- [5] F. Carmona and A. M. S. Pereira, "Herbal medicines: Old and New Concepts, Truths and Misunderstandings," *Rev. Bras. Farmacogn. Brazilian J. Pharmacogn.*, vol. 23, no. 2, pp. 379–385, 2013, doi: 10.1590/S0102-695X2013005000018.
- [6] H. N. Wardani, "The Potency of Soursop Leaf Extracts for the Treatment of Acne Skin," *J. Penelit. Perawat Prof.*, vol. 2, no. 4, pp. 563–570, 2019, doi: 10.37287/jppp.v2i4.218.
- [7] I. A. Kebede, H. F. Gebremeskel, A. Dawed Ahmed, and G. Dule, "Bee Products and their Processing: A Review," *Pharm. Pharmacol. Int. J.*, vol. 12, no. 1, pp. 5–12, 2024, doi: 10.15406/ppij.2024.12.00425.
- [8] G. B. Ç. Bideci and S. Karasalihoglu, "A Retrospective Study: Physicochemical Properties of the Flower Honey from the Black Sea Region of Turkey in Different Years," *Food Sci. Technol.*, vol. 42, pp. 1–6, 2022, doi: 10.1590/fst.58120.
- [9] S. F. Chairunissa, "Klasifikasi Jenis Lebah Madu Menggunakan Metode Convolutional Neural Network (CNN)," Skripsi, Universitas Multi Data Palembang, 2023.
- [10] Y. B. P. Rio, A. Djamal, and A. Asterina, "Perbandingan Efek Antibakteri Madu Asli Sikabu dengan Madu Lubuk Minturun terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro," *J. Kesehat. Andalas*, vol. 1, no. 2, pp. 59–62, 2012, doi: 10.25077/jka.v1i2.15.
- [11] F. A. Hudri, "Uji Efektivitas Ekstrak Madu Multiflora dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*," Skripsi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, 2014.
- [12] J. Widiyanto, A. Sulistyarsi, S. Utami, and E. Winarsih, *Budidaya Lebah Madu Apis sp*, no. 85. Madiun: UNIPMA Press, 2023.
- [13] T. Priyono, "Inventarisasi Tumbuhan Sumber Pakan Lebah Madu di Desa Buana Sakti Kecamatan Batanghari Kabupaten Lampung Timur," Skripsi, Universitas Bandar lampung, 2012.
- [14] A. El Ghouizi *et al.*, "Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties," *Antioxidants*, vol. 12, no. 3, pp. 1–31, 2023, doi: 10.3390/antiox12030557.
- [15] S. I. Anjum *et al.*, "Bee Pollen as a Food and Feed Supplement and a Therapeutic Remedy: Recent Trends in Nanotechnology," *Front. Nutr.*, vol. 11, pp. 1–16, 2024, doi: 10.3389/fnut.2024.1371672.
- [16] R. A. Nader *et al.*, "Beehive Products as Antibacterial Agents : A Review," *Antibiotics*, vol. 10, no. 6, pp. 1–25, 2023.
- [17] A. M. Sari, E. Rosamah, W. Suwinarti, I. W. Kusuma, and E. T. Arung, Ph.D., "Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Ekstrak Bee Pollen Lebah Kelulut (*Tetragonula sarawakensis*)," *J. Ris. Ind. Has. Hutan*, vol. 13, no. 2, p. 123, 2021, doi: 10.24111/jrihh.v13i2.7050.
- [18] C. Habryka, R. Socha, and L. Juszczak, "Effect Of Bee Pollen Addition on the Polyphenol Content, Antioxidant Activity and Quality Parameters Of Honey," *Antioxidants*, vol. 10, no. 5, pp. 1–15, 2021, doi: 10.3390/antiox10050810.
- [19] M. Yunus and Z. B. Mutmainnah Abbas, "Uji Daya Hambat Madu Hutan Murni (Meu Depuratum) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*," *Farmasi*, vol. 16, no. 01, pp. 6–12, 2019.
- [20] M. A. Al-Kafaween and H. A. N. Al-Jamal, "A Comparative Study of Antibacterial and Antivirulence Activities of Four Selected Honeys to Manuka Honey," *Iran. J. Microbiol.*, vol. 14, no. 2, pp. 238–251, 2022, doi: 10.18502/ijm.v14i2.9193.
- [21] R. Rosmania and F. Yanti, "Perhitungan Jumlah Bakteri Di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrotometri," *J. Penelit. Sains*, vol. 22, no. 2, pp. 76–86, 2020, doi: 10.56064/jps.v22i2.564.
- [22] C. and L. S. I. (CLSI), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, vol. 40, no. 1. 2020.
- [23] R. Ridoni, R. Radam, and Fatriani, "Analisis Kualitas Madu Kelulut (*Trigona sp*) dari Desa Mangkauk Kecamatan Pengaron Kabupaten Banjar," *J. Sylva Sci.*, vol. 03, no. 2, pp. 346–355, 2020.

- [24] A. E. Z. Hasan, H. Herawati, P. Purnomo, and L. Amalia, "Fisikokimia Madu Multiflora Asal Riau dan Potensinya sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*," *Chem. Prog.*, vol. 13, no. 2, pp. 81–90, 2020, doi: 10.35799/cp.13.2.2020.31594.
- [25] R. Hilmanto, "Analisis Paket Teknologi Lokal Dalam Pengelolaan Produksi Madu Organik Untuk Pasar Global dan Industri," *J. Ilmu Pertan. Indones.*, vol. 15, no. 2, pp. 88–95, 2010.
- [26] D. D. Wulandari, "Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan," *J. Kim. Ris.*, vol. 6, no. 1, pp. 16–22, 2017, doi: 10.31938/jsn.v6i2.160.
- [27] K. Khasanah, S. Rusmalina, D. A. Mutholib, and A. Farokhah, "Analisis Kadar Air, Keasaman, dan Gula Reduksi Madu Budidaya secara Kimia," *An-Najat J. Ilmu Farm. dan Kesehat.*, vol. 2, no. 2, pp. 236–247, 2024, [Online]. Available: <https://jurnal.stikes-ibnusina.ac.id/index.php/an-Najat/article/view/1649/1936>
- [28] U. Islamiati, A. I. Parobe, R. Yanuarty, and J. Tandi, "Standardization of Non-specific Parameters of Honey from Farmed Bees in Tojo Una Una," 2024.
- [29] A. R. Koesprimadisari, D. Arrisujaya, and R. Syafdaningsih, "Uji Kandungan Hidroksimetilfurfural (HMF) sebagai Parameter Kualitas Madu," *J. Sains Nat.*, vol. 6, no. 2, p. 44, 2018, doi: 10.31938/jsn.v6i2.159.
- [30] A. A. Suhaela, Alfian Noor, "Pengaruh Pemanasan dan Lama Penyimpanan terhadap Kadar 5-(Hidroksimetil)Furan-2-Karbaldehida (HMF) pada Madu Asal Mallawa," pp. 1–10, 2023.
- [31] S. Almasaudi, "The Antibacterial Activities of Honey," *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, no. 4, pp. 2188–2196, 2021, doi: 10.1016/j.sjbs.2020.10.017.
- [32] S. Maimunah, Supartiningish, K. Marpaung, E. C. Silalahi, and W. Turnit, "Uji Aktivitas Antibakteri Madu Hutan terhadap Bakteri *Bacillus cereus*," *Farmanensis*, vol. 8, no. 1, pp. 9–15, 2021.
- [33] R. Saepudin, S. Sutriyono, and R. O. Saputra, "Kualitas Madu yang Beredar di Kota Bengkulu Berdasarkan Penilaian Konsumen dan Uji Secara Empirik," *J. Sain Peternak. Indones.*, vol. 9, no. 1, pp. 30–40, 2014, doi: 10.31186/jspi.id.9.1.30-40.
- [34] G. Nugroho and Wahidin, "Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Sampel Madu Hutan, Madu Budidaya dan Madu Merek dengan Metode DPPH," *J. Ilm. Sain dan Teknol.*, vol. 2, no. 12, pp. 820–833, 2024.
- [35] E. D. R. Purba and R. P. K. D. Purba, "Uji Aktivitas Antibakteri Madu Pahit Pelawan terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*," *J. Ilm. Jophus J. Pharm. UMUS*, vol. 4, no. 02, pp. 31–37, 2023.
- [36] R. Gunawan, Erwin, and Syafrizal, "Uji Fitokimia dan Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Madu Trigona," *J. At.*, vol. 1, no. 3, pp. 18–21, 2018.
- [37] A. D. Mardiana, M. Ibrahim, L. Lisdiana, J. Biologi, F. Matematika, and P. Alam, "Potensi Filtrat Daun *Sansevieria trifasciata* terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*," *Lentera Bio Berk. Ilm. Biol.*, vol. 4, no. 1, pp. 6–12, 2015.
- [38] A. Vijayalakshmi, A. Tripura, and V. Ravichandiran, "Development and Evaluation of Anti-Acne Products from Terminalia Arjuna Bark," *Int. J. PharmTech Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 320–327, 2011.
- [39] V. Y. Sasebohe, V. C. Prakasita, and D. Aditiyarini, "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat," *Sciscitatio*, vol. 4, no. 1, 2023, doi: 10.21460/sciscitatio.2023.41.107.
- [40] S. W. P. Jampur, E. Tangkonda, and M. M. Laut, "Uji Resistensi *Campylobacter* sp. yang Diisolasi dari Rusa Timor (*Rusa Timorensis*) Terhadap Antibiotik," *J. Vet. Nusant.*, vol. 7, no. 1, pp. 138–148, 2024, doi: 10.35508/jvn.v7i1.11899.
- [41] D. M. Sun, D. I. Rini, and R. L. Nurina, "Uji Aktivitas Antibakteri Madu Hutan terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro," *Cendana Med. J.*, vol. 16, no. 1, pp. 66–73, 2019.
- [42] Fatimah Marwah, Sri Julyani, Rasfayanah, D. A. Abdi, and Yani Sodiqah, "Uji Sensitivitas Madu Lebah Hutan (*Apis Dorsata*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Acne Vulgaris," *J. Mhs. Kedokt.*, vol. 2, no. 8, pp. 578–584, 2022, doi: 10.33096/fmj.v2i8.1110.
- [43] K. Jantakee and Y. Tragoolpua, "Activities of Different Types of Thai Honey on Pathogenic Bacteria Causing Skin Diseases, Tyrosinase Enzyme and Generating Free Radicals," *Biol. Res.*, vol. 48, pp. 1–11, 2015, doi: 10.1186/0717-6287-48-4.
- [44] C. Chepkemoi, T. K. Bett, E. Mandala, S. Kiprono, and J. Onyancha, "In-vitro Antimicrobial Effects and Phytochemical Contents of Stingless Bee Meliponula beccarii Honey and Pollen from Baringo County, Kenya," vol. 12, no. 6, pp. 366–376, 2023, doi: 10.31254/phyto.2023.12603.
- [45] S. A. Aulia, D. Sutiningsih, H. Setyawan, and A. Udyiono, "Keberadaan Residu Tetrasiklin pada Daging Ayam Broiler di Kabupaten Kudus (Studi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Tahun 2019)," *J. Epidemiol. Kesehat. Komunitas*, vol. 8, no. 1, pp. 69–75, 2023, doi: 10.14710/jekk.v8i1.6918.

**Conflict of Interest Statement:**

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.