FORMULASI SERUM *ANTI-ACNE* dari EKSTRAK FRAKSI MADU LEBAH HUTAN (*Apis dorsata)* ASAL INDONESIA

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si.) dalam Ilmu Biologi

Disusun Oleh:

NUR FAIQOH

NIM 2108016094

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

SEMARANG

2025

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Faiqoh

NIM : 2108016094

Program Studi : S1 Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul

FORMULASI SERUM *ANTI-ACNE* dari EKSTRAK FRAKSI MADU LEBAH HUTAN (*Apis dorsata)* ASAL INDONESIA

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 15 Agustus 2025

Pembuat Pernyataan



Nur Faiqoh

NIM. 2108016094

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax.7615387

LEMBAR PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Formulasi Serum *Anti-acne* dari Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Asal Indonesia

Penulis : Nur Faiqoh

NIM : 2108016094

Program Studi : S1 Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam ilmu Biologi.

Semarang, 15 Agustus 2025

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech.
NIP. 198412182011012004

Penguji II

Dian Triastari Armanda, M.Si.
NIP. 198312212011012004

Penguji III

Andang Syaifudin, M.Sc.
NIP. 19890719201903101

Penguji IV

Pamungkas Rizki Ferdian, M.Si.
NIP. 199205222019021003

Pembimbing I

Andang Syaifudin, M.Sc.
NIP. 19890719201903101

Pembimbing II

Pamungkas Rizki Ferdian, M.Si.
NIP. 199205222019021003

NOTA DINAS

Semarang, 15 Agustus 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb.

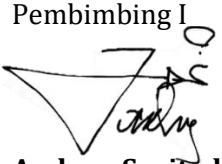
Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Formulasi Serum *Anti-acne* dari Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Asal Indonesia
Nama : Nur Faiqoh
NIM : 2108016094
Jurusan : S1 Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Pembimbing I



Andang Syaifudin, M.Sc.
NIP. 19890719201903101

NOTA DINAS

Semarang, 15 Agustus 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Formulasi Serum *Anti-acne* dari Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Asal Indonesia
Nama : Nur Faiqoh
NIM : 2108016094
Jurusan : S1 Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Pembimbing II

Pamungkas Rizki Ferdian, M.Si.
NIP. 199205222019021003

MOTTO HIDUP

اَللّٰهُ نُوْرُ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِۗ

“Allah (pemberi) cahaya (pada) langit dan bumi” (An-Nur: 35)

ABSTRAK

Jerawat merupakan masalah kulit yang umum terjadi akibat kolonisasi bakteri dan peradangan. Penggunaan antibiotik sintetis jangka panjang dalam terapi jerawat telah menimbulkan masalah resistensi, sehingga diperlukan alternatif bahan aktif alami dalam mengurangi risiko resistensi. Madu lebah hutan (*Apis dorsata*) diketahui mengandung senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri dan antiinflamasi. Namun, belum cukup banyak penelitian yang melaporkan bioaktivitas madu lebah hutan asal Indonesia sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dan antiinflamasi ekstrak fraksi madu lebah hutan dari empat daerah, yaitu AD1 (Riau), AD2 (Maluku Utara), AD3 (Jawa Barat), dan AD4 (Nusa Tenggara Timur), serta menilai potensi ekstrak fraksi terpilih dalam formulasi serum *anti-acne*. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air. Uji antibakteri dilakukan terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi cakram, sedangkan uji antiinflamasi menggunakan metode inhibisi denaturasi protein dengan b*ovine serum albumin* (BSA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat AD4 pada konsentrasi 100.000 bpj memiliki zona hambat tertinggi terhadap *P. acnes* (12,34 ± 0,025 mm) dan *S. aureus* (4,11 ± 0,025 mm), namun tidak menunjukkan aktivitas terhadap *P. aeruginosa*. Ekstrak fraksi etil asetat AD4 juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi tertinggi, yaitu 43,65 ± 0,22 % pada konsentrasi 1.000 bpj sehingga dipilih dalam formulasi serum *anti-acne*. Sediaan *anti-acne* berbahan aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan telah berhasil diformulasikan dengan karakteristik diantaranya: tekstur sediaan homogen, daya sebar 5,2 cm, pH 6,5, zona hambat *P. acnes* 14,48 ± 0,036 mm, *S. aureus* 6,23 ± 0,035 mm dan aktivitas antiinflamasi 53,38 ± 0,22 %.

Kata kunci: antibakteri, antiinflamasi, *Apis dorsata,* madu lebah hutan, serum *anti-acne.*

ABSTRACT

Acne is a common skin disorder caused by bacterial colonization and inflammation. Long-term use of synthetic antibiotics in acne therapy has led to resistance issues, so alternative natural active ingredients are needed to reduce the risk of resistance. Forest bee honey (Apis dorsata) contains bioactive compounds with antibacterial and anti-inflammatory properties. However, studies on Indonesian forest bee honey remain limited. The purpose of this study was to evaluate the antibacterial and anti-inflammatory activities fraction extracts of forest bee honey from four regions: AD1 (Riau), AD2 (North Maluku), AD3 (West Java), and AD4 (East Nusa Tenggara), and to assess the potential of selected fraction extracts in anti-acne serum formulation. Fractionation was carried out using n-hexane, ethyl acetate, and water. Antibacterial activity against Propionibacterium acnes, Staphylococcus aureus, and Pseudomonas aeruginosa was evaluated using the disc diffusion method, while anti-inflammatory activity was assessed using the protein denaturation inhibition method with bovine serum albumin (BSA). The ethyl acetate fraction extract of AD4 at 100,000 ppm showed the highest inhibition zones against P. acnes (12.34 ± 0.03 mm) and S. aureus (4.11 ± 0.03 mm), but did not show activity against P. aeruginosa. It also demonstrated the highest anti-inflammatory activity (43.65 ± 0.22 % at 1,000 ppm) and was chosen for serum formulation. The resulting anti-acne serum showed a homogeneous texture, spreadability of 5.2 cm, pH 6.5, inhibition zones of 14.48 ± 0.04 mm (P. acnes) and 6.23 ± 0.04 mm (S. aureus), and anti-inflammatory activity of 53.38 ± 0.22 %.

Keywords: antibacterial, anti-inflammatory, Apis dorsata, forest honey, anti-acne serum.

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Transliterasi huruf arab latin yang digunakan dalam penyusunan skripsi ini mengikuti pedoman SKB (Sesuai Keputusan Bersama) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Nomor: 158 tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987 sebagai berikut:

أ	A	ط	T
ب	B	ظ	Z
ت	T	ع	‘
ث	S	غ	G
ج	J	ف	F
ح	H	ق	Q
خ	KH	ك	K
د	D	ل	L
ذ	Z	م	M
ر	R	ن	N
ز	Z	و	W
س	S	ه	H
ش	SY	ء	‘
ص	S	ي	Y
ض	D		

Keterangan penulisan kata sandang (Al-) dalam teks ditulis menyesuaikan rujukan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **"Formulasi Serum *Anti-acne* dari Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Asal Indonesia".** Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan kosmetik berbahan alami serta menjadi bagian dari upaya pemanfaatan sumber daya alam hayati Indonesia yang potensial untuk kesehatan kulit.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan, arahan, serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah memberikan kontribusi, baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini, khususnya kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Sunarto dan Ibu Nur Elah, atas segala doa yang senantiasa dipanjatkan, pengorbanan yang tulus tanpa pamrih, serta dukungan yang diberikan baik secara moral maupun material. Penulis sangat berterima kasih atas kasih sayang, ketulusan, dan komitmen dalam mendampingi setiap langkah penulis, serta atas prioritas yang selalu

diberikan terhadap pendidikan dan masa depan anak-anaknya.

2. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
3. Bapak Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
4. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech. selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
5. Bapak Andang Syaifudin, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing I, atas segala bimbingan dan arahan ilmiah yang telah diberikan sehingga membantu penulis dalam memahami materi dan menyusun naskah secara runtut dan terarah.
6. Bapak Pamungkas Rizki Ferdian, M.Si. selaku Dosen Pembimbing II, atas dukungan teknis, saran metodologis, pendampingan secara langsung selama proses penelitian di laboratorium dan motivasi yang sangat membantu kelancaran proses penelitian skripsi ini.
7. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech. dan Ibu Dian Triastari Armanda, M.Si. selaku dosen penguji, atas

masukan, kritik dan saran yang membangun dalam proses penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.

8. Ibu Kusrinah, M.Si. selaku Dosen Wali atas arahan, dukungan dan pendampingan akademik yang telah diberikan selama masa studi.
9. Segenap Bapak Ibu dosen, pegawai dan civitas akademik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang yang telah memberikan ilmu luar biasa bermanfaat bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
10. Segenap keluarga besar Laboratorium Biokimia dan Biosprospeksi Hewan, Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama proses penelitian berlangsung, khususnya kepada Bapak Taufiq, Ibu Kasirah, Bapak Asep, Ibu Tri, Ibu Rizki, Ibu Lia, Ibu Rini, Ibu Fani, Ibu Laras, serta para *Research Assistant* (RA), yaitu Kak Paradisica dan Kak Ahad, atas suasana pembimbingan yang hangat dan penuh kekeluargaan.
11. Kakak dan adik penulis, Inarotul Khija, Amilatun Najikha, dan Hilya Khafidzah Khairani atas kasih sayang, semangat, perhatian, nasihat, serta dukungan

moral dan materi yang tulus diberikan, sehingga menjadi kekuatan tersendiri bagi penulis dalam menyelesaikan proses perkuliahan.

12. Sahabat penulis, Novita Ika Fitriyani atas segala bentuk dukungan, semangat, kebersamaan, serta bantuan yang diberikan selama masa studi. Kehadiran dan persahabatan yang terjalin selama ini menjadi sumber kekuatan dan motivasi yang berarti dalam menyelesaikan setiap proses akademik hingga tersusunnya skripsi ini.
13. Teman terdekat penulis, Herlin Nur Aulia, dan Yevi Widia Kurniati atas pertemanan yang sehat, kebersamaan yang hangat, serta dukungan yang senantiasa menguatkan sepanjang perjalanan akademik ini.
14. Sahabat penulis di tempat tinggal, Imtanna Yu'faa dan Qo'imah atas segala bentuk keyakinan yang diberikan bahwa penulis mampu melewati setiap proses dan menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
15. Rekan-rekan penelitian penulis, Herlin Nur Aulia, Elvira Zahira Fitri, Giffara Satya Purnama, Joseph Winson Sutanto, dan Khairunisa Salsabila atas dukungan, semangat dan canda tawa yang tidak hanya

meringankan proses penelitian namun menjadikan pengalaman yang berharga dan tidak terlupakan.

16. Terakhir tidak lupa kepada diri saya sendiri, Nur Faiqoh, terima kasih telah bertahan dalam diam, terus melangkah meski penuh keraguan, tetap belajar meski diliputi kelelahan, dan tidak menyerah dalam menghadapi setiap proses, hingga akhirnya mampu menyelesaikan perjalanan panjang ini.

Tiada kata yang lebih tepat selain ucapan terima kasih yang tulus kepada semua pihak yang telah memberikan doa, dukungan, dan kontribusi dalam proses penyusunan skripsi ini. Keterbatasan dan kekurangan yang ada tidak mengurangi harapan penulis agar karya ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian di masa mendatang, serta menjadi rujukan yang berguna bagi para pembaca dan masyarakat luas.

Semarang, 15 Agustus 2025

Penulis



Nur Faiqoh

NIM. 2108016094

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN ..... **ii**
LEMBAR PENGESAHAN ..... **iii**
NOTA DINAS ..... **iv**
NOTA DINAS ..... **v**
MOTTO HIDUP ..... **vi**
ABSTRAK ..... **vii**
ABSTRACT ..... **viii**
TRANSLITERASI ARAB-LATIN ..... **ix**
KATA PENGANTAR ..... **x**
DAFTAR ISI ..... **xv**
DAFTAR TABEL ..... **xx**
DAFTAR GAMBAR ..... **xxii**
DAFTAR ISTILAH ..... **xxiv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xxix**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 5
C. Tujuan Penelitian 6
D. Manfaat Penelitian 6
BAB II LANDASAN PUSTAKA **8**
A. Kajian Teori 8
1. Formulasi Serum 8
a. Formulasi 8

b. Serum 12
c. Cara Kerja Serum 13
2. Jerawat 13
a. Definisi Jerawat dan Patogenesisnya 13
b. Faktor Penyebab Jerawat 16
1). Sekresi Kelenjar Sebasea yang Hiperaktif 16
2). Hiperkeratinisasi pada Infundibulum Rambut .. 16
3). Infeksi Bakteri 17
c. Macam-macam Bentuk Jerawat 18
3. Antibiotik 20
4. *Anti-acne* 23
5. Bakteri Penyebab Jerawat dan Kulit 25
a. *Propionibacterium acnes* 25
b. *Staphylococcus aureus* 28
c. *Pseudomonas aeruginosa* 30
6. Definisi Madu dan Karakteristiknya 32
a. Madu 32
b. Sifat Antibakteri Madu 35
7. Ekstraksi 37
8. Fraksinasi 38
9. Lebah Madu 40
a. Lebah Hutan (*Apis dorsata*) 40
b. Lebah Asia (*Apis cerana*) 40
c. Lebah Coklat (*Apis mellifera*) 41

d. Lebah Kerdil (*Apis florea*) 42
e. Lebah Kecil (*Apis andreniformis*) 42
f. Lebah Merah (*Apis koschevnikovi*) 43
g. Lebah Lokal Sulawesi (*Apis nigrocincta*) 43
h. Lebah Tanpa Sengat (*Trigona* sp.) 44
10. *Apis dorsata* 45
a. Klasifikasi dan Morfologi *Apis dorsata* 45
b. Perbedaan Madu Lebah Hutan dan Madu Lain 46
11. Antiinflamasi 47
a. Inflamasi 47
b. Antiinflamasi 49
1). Antiinflamasi-Steroid (SAID) 50
2). Antiinflamasi Non-Steroid (NSAID) 51
d. Metode Uji Antiinflamasi 51
12. Uji Aktivitas Antibakteri: Metode Difusi Cakram 53
13. Uji Sediaan Serum 55
14. Spektrofotometer UV-Vis 57
B. Penelitian yang Relevan 60
C. Kerangka Berpikir 70
D. Hipotesis 71
BAB III METODE PENELITIAN 72
A. Jenis Penelitian 72
B. Sampel Penelitian 73
C. Tempat dan Waktu Penelitian 73

D. Alat dan Bahan 73
E. Metode 75
1. Ekstraksi Senyawa Aktif: fraksinasi cair-cair pelarut bertingkat: air, n-heksana, dan etil asetat 75
2. Pengujian Antibakteri 77
3. Uji Antiinflamasi Berdasarkan Uji Inhibisi Denaturasi Protein 81
4. Formulasi Serum 83
5. Uji Sediaan Serum 84
F. Analisis Data 87
G. Alur Penelitian 89
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 90
A. Sampel Penelitian 90
B. Rendemen Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 93
C. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 99
D. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 108
E. Formulasi dan Uji Sediaan Serum *Anti-acne* Berbasis Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 115
F. Uji Efikasi *Anti-acne* dan Antiinflamasi Sediaan Serum Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 121

BAB V PENUTUP.....131
A. Simpulan..... 131
B. Saran 132
DAFTAR PUSTAKA 134
LAMPIRAN.....170

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Formulasi Standar Serum *Anti-acne* 9
Tabel 2. 2 *Grading Acne vulgaris* 14
Tabel 2. 3 Klasifikasi Antibakteri Berdasarkan Ukuran Zona Hambat Bakteri 55
Tabel 2. 4 Penelitian yang Relevan 60
Tabel 3. 1 Kode Sampel Penelitian 73
Tabel 3. 2 Formulasi Modifikasi Serum Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 83
Tabel 4. 1 Rata-rata Rendemen Ekstrak Fraksi n-heksana, etil asetat dan air Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 95
Tabel 4. 2 Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 100
Tabel 4. 3 Persentase Inhibisi Denaturasi Protein Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) Konsentrasi 1.000 bpj 109
Tabel 4. 4 Persentase Inhibisi Denaturasi Natrium Diklofenak sebagai Kontrol Positif 112
Tabel 4. 5 Hasil Uji Sediaan Serum *Anti-acne* Berbasis Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 118
Tabel 4. 6 Hasil Uji Efikasi Serum *Anti-acne* Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) Berdasarkan Uji Difusi Cakram 122

Tabel 4. 7 Hasil Uji Efikasi Antiinflamasi Serum Berdasarkan Persentase Inhibisi Denaturasi Protein 126

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Jenis Jerawat 14
Gambar 2. 2 Mekanisme Pembentukan Jerawat 15
Gambar 2. 3 Macam-macam Bentuk Jerawat 18
Gambar 2. 4 Mekanisme antibiotik 21
Gambar 2. 5 *Propionibacterium acnes* perbesaran 630x 26
Gambar 2. 6 *Staphylococcus aureus* perbesaran 10.000x 29
Gambar 2. 7 *Pseudomonas aeruginosa* perbesaran 1000x 31
Gambar 2. 8 Fraksinasi Cair-Cair menggunakan Corong Pisah 39
Gambar 2. 9 Lebah Hutan (*A. dorsata)* 45
Gambar 2. 10 Mekanisme terjadinya Inflamasi 48
Gambar 2. 11 Prosedur Metode Difusi Cakram 53
Gambar 2. 12 Mekanisme Kerja Spektrofotometer *Single beam* (a) Spektrofotometer *Double beam* (b) 59
Gambar 2. 13 Kerangka Berpikir 70
Gambar 3. 1 Diagram Pengukuran Zona Hambat 80
Gambar 3. 2 Alur Penelitian 89
Gambar 4. 1 Persentase Rendemen Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 93
Gambar 4. 2 Pengujian Antibakteri pada *P. acnes* (a), *S. aureus* (b), *P. aeruginosa* (c) 103
Gambar 4. 3 Tampilan Visual Serum *Anti-acne* Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 116

Gambar 4. 4 Hasil Pengujian Serum *Anti-acne* terhadap Bakteri *P. acnes* (a), *S. aureus* (b) *dan P. aeruginosa* (c) 122

DAFTAR ISTILAH

ISTILAH	PENJELASAN
Anti-acne	Zat atau sediaan yang dapat mencegah atau mengurangi timbulnya jerawat melalui mekanisme antibakteri, antiinflamasi, atau pengaturan produksi sebum.
Antiinflamasi	Zat atau mekanisme yang dapat mengurangi atau mencegah peradangan.
Antimikrob	Zat atau senyawa yang mampu menghambat atau membunuh mikroorganisme.
Bakteri Gram-negatif	Bakteri dengan dinding sel tipis yang dilapisi membran luar mengandung lipopolisakarida, sehingga lebih resisten terhadap antibiotik.
Bakteri Gram-positif	Bakteri dengan dinding sel tebal yang kaya peptidoglikan, sehingga umumnya lebih rentan terhadap antibiotik karena tidak memiliki membran luar pelindung.
Bovine Serum Albumin (BSA)	Protein standar yang digunakan dalam uji inhibisi denaturasi protein sebagai model untuk aktivitas antiinflamasi.
Data Homogen	Data yang memiliki kesamaan varians antar kelompok atau sampel, sehingga perbandingan dapat dilakukan tanpa adanya perbedaan signifikan dalam keragaman (*homogeneity of variance*).

Data Normal	Data yang mengikuti pola distribusi normal (*Gaussian distribution*), yaitu distribusi dengan bentuk kurva lonceng simetris dengan sebagian besar nilai berada di sekitar rata-rata dan semakin sedikit data yang muncul pada nilai ekstrem.
Denaturasi protein	Perubahan struktur alami protein akibat panas, pH ekstrem, atau bahan kimia sehingga menyebabkan kehilangan fungsi biologis.
Diversifikasi	Upaya penganekaragaman produk, usaha, atau strategi untuk mengurangi risiko dan meningkatkan peluang keuntungan.
Difusi Cakram	Metode uji aktivitas antimikrob menggunakan kertas cakram pada media agar yang telah diinokulasi bakteri uji.
Ekstraksi	Proses pemisahan senyawa bioaktif dari bahan alam menggunakan pelarut tertentu.
Folikel pilosebaseus	Struktur kulit yang terdiri atas folikel rambut dan kelenjar sebasea (minyak), tempat tumbuhnya rambut dan produksi sebum.
Formulasi	Proses perancangan dan pencampuran bahan aktif dengan bahan tambahan (eksipien) untuk menghasilkan sediaan kosmetik yang stabil dan efektif.
Ekstrak Fraksi	Hasil pemisahan senyawa dari ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran pelarut.

Higroskopis	Sifat suatu bahan yang mudah menyerap air dari lingkungan sekitarnya.
Hiperkeratinisasi	Peningkatan produksi keratin pada lapisan kulit atau folikel rambut, yang dapat menyebabkan penyumbatan folikel.
Glukosa Oksidase	Enzim yang mengoksidasi glukosa menjadi glukonolakton dan H_2O_2, berperan pada aroma khas dan efek antimikroba.
Infundibulum folikel rambut	Bagian atas folikel rambut yang menghubungkan folikel dengan permukaan kulit, tempat sebum dan sel kulit mati dapat menumpuk.
In vitro	Uji atau percobaan yang dilakukan di luar organisme hidup menggunakan medium buatan di laboratorium.
Invensi	Penemuan baru di bidang ilmu pengetahuan yang sebelumnya belum pernah ada
Kelainan multifaktor	Gangguan yang disebabkan oleh kombinasi faktor genetik dan lingkungan, bukan oleh satu penyebab tunggal.
Kontrol negatif	Pembanding dalam uji biologis yang tidak mengandung zat aktif, umumnya berupa pelarut atau basis formulasi.
Kontrol positif	Pembanding dalam uji biologis yang menggunakan zat atau obat yang sudah diketahui memiliki efek tertentu.

Lesi	Perubahan atau kelainan pada jaringan kulit yang dapat berupa bintik, benjolan, lepuhan, termasuk pada jerawat.
Metabolit sekunder	Senyawa alami yang dihasilkan oleh organisme (tumbuhan/hewan) dan tidak terlibat langsung dalam metabolisme primer, tetapi memiliki fungsi biologis penting seperti antibakteri, antioksidan, atau antiinflamasi.
Nektar Ekstrafloral	Cairan manis yang dihasilkan oleh kelenjar nektar yang terletak di luar bagian bunga, misalnya pada daun, tangkai, stipula, atau bagian vegetatif lainnya
Nektar Floral	Cairan manis yang dihasilkan oleh kelenjar nektar yang terdapat di dalam bunga
Non-spore forming (tidak membentuk spora)	Bakteri yang tidak memiliki kemampuan untuk membentuk spora sebagai bentuk pertahanan diri. Bakteri jenis ini umumnya lebih rentan terhadap kondisi lingkungan ekstrem dibandingkan bakteri pembentuk spora. Contoh: *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus.*
Pelarut polar/non-polar	Jenis pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi untuk memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kelarutannya.
Pori-pori kulit	Saluran kecil pada permukaan kulit tempat keluarnya sebum dan keringat.
Sebum	Minyak alami yang diproduksi oleh kelenjar sebasea untuk melindungi kulit, namun

	produksinya yang berlebih dapat memicu jerawat.
Senyawa fenolik	Golongan metabolit sekunder tumbuhan dengan aktivitas biologis, termasuk antibakteri dan antiinflamasi.
Sediaan topikal	Produk yang digunakan pada permukaan kulit untuk tujuan perawatan, perlindungan, atau terapi.
Viskositas	Tingkat kekentalan suatu cairan yang memengaruhi kenyamanan penggunaan sediaan kosmetik.
Zona hambat	Daerah bening di sekitar cakram pada media agar yang menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Uji ANOVA Rendemen Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 170
Lampiran 2 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD1 n-heksana 171
Lampiran 3 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD1 etil asetat 172
Lampiran 4 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD1 air 173
Lampiran 5 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD2 n-heksana 174
Lampiran 6 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD2 etil asetat 175
Lampiran 7 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD2 air 176
Lampiran 8 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD3 n-heksana 177
Lampiran 9 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD3 etil asetat 178
Lampiran 10 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD3 air 179
Lampiran 11 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD4 n-heksana 180
Lampiran 12 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD4 etil asetat 181
Lampiran 13 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD4 air 182
Lampiran 14 Hasil Uji ANOVA Antiinflamasi Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) 183
Lampiran 15 Hasil Uji ANOVA Antibakteri Formulasi Serum *Anti-acne* terhadap Bakteri *P. acnes* 185
Lampiran 16 Hasil Uji ANOVA Antibakteri Formulasi Serum *Anti-acne* terhadap Bakteri *S. aureus* 186
Lampiran 17 Hasil Uji ANOVA Antiinflamasi Formulasi Serum *Anti-acne* 187
Lampiran 18 Komposisi media *Nutrient Broth* 188

Lampiran 19 Dokumentasi Penelitian 188
Lampiran 20 Riwayat Hidup 190

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jerawat merupakan kelainan multifaktor pada folikel pilosebaseus yang dipengaruhi oleh hiperkeratinisasi, produksi sebum berlebih, serta kolonisasi bakteri (Imasari *et al*., 2021). Hiperkeratinisasi dan peningkatan produksi sebum dapat menyumbat folikel, sehingga menciptakan lingkungan kondusif bagi pertumbuhan bakteri penyebab jerawat yang selanjutnya memicu respons inflamasi pada kulit (Parac *et al*., 2023). Jerawat berkembang melalui interaksi kompleks antara faktor endogen, seperti hiperkeratinisasi dan produksi sebum, dengan kolonisasi bakteri pada permukaan kulit (Kim, 2024).

Secara signifikan, bakteri utama yang berperan dalam patogenesis jerawat adalah *Propionibacterium acne*s dan keberadaan *Staphylococcus aureus* dapat memperparah adanya peradangan (Pariury *et al*., 2021). *Propionibacterium acne*s dan *Staphylococcus aureus* memecah sebum menjadi asam lemak bebas, merangsang sel darah putih untuk melepaskan enzim perusak dinding folikel rambut, sehingga berkontribusi pada proses timbulnya jerawat (Kusumawati *et al*., 2018). Selain itu, *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat ditemukan pada lesi kulit berjerawat, terutama yang mengalami inflamasi atau infeksi sekunder. Bakteri ini mampu

membentuk biofilm dan menghasilkan enzim proteolitik yang memicu peradangan berlebihan, sehingga dapat memperparah jerawat serta menghambat efektivitas terapi topikal (Shaker & Al-musawi, 2022).

Data *Global Burden of Disease (GBD)* tahun 2021, menyatakan prevalensi jerawat di Indonesia mencapai 80–85% pada remaja, khususnya kelompok usia 15–18 tahun. Sementara itu, pada perempuan usia di atas 25 tahun, prevalensi jerawat tercatat 12% dan meningkat hingga 35% pada kelompok usia 35–44 tahun (Layton *et al*., 2021). Prevalensi kasus yang tinggi menunjukkan bahwa jerawat merupakan masalah kulit yang perlu mendapatkan perhatian khusus karena dapat memengaruhi kualitas hidup, kepercayaan diri, serta berpotensi menimbulkan jaringan parut dan hiperpigmentasi (Metrics, 2019).

Penanganan jerawat secara konvensional umumnya dilakukan dengan penggunaan antibiotik topikal sintetik untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen (Parham *et al*., 2020). Namun, penggunaan suatu antibiotik secara berlebihan atau dalam jangka waktu panjang dapat memicu resistensi bakteri, sehingga efektivitas terapi menurun dan risiko infeksi kronis meningkat (Cordeiro *et al*., 2022). Hal ini mendorong pencarian antibiotik alternatif, terutama dari bahan alam untuk diversifikasi antibiotik sehingga resistensi antibiotik

dapat dicegah. Saat ini, pergeseran penggunaan antibiotik sintetik ke antibiotik bahan alam semakin meningkat karena diyakini memiliki efek samping yang lebih ringan sekaligus efektif dalam mengatasi berbagai gangguan kesehatan (Max *et al.,* 2020). Oleh karena itu, berbagai sediaan obat dan kosmetik termasuk sediaan *anti-acne* dengan antibiotik bahan alam mulai banyak diformulasikan (Kumontoy, 2023).

Salah satu sumber bahan alam yang berpotensi untuk dijadikan antibiotik adalah madu. Madu adalah cairan kental yang diproduksi oleh lebah madu melalui proses pengolahan nektar bunga menjadi suatu zat yang kaya akan gula alami (Pote *et al*., 2025). Indonesia memiliki banyak spesies lebah penghasil madu, salah satunya adalah *Apis dorsata* atau lebih dikenal sebagai lebah hutan (Mahani *et al*., 2025). Madu lebah hutan mengandung senyawa bioaktif yang beragam karena lebah mengumpulkan nektar dari berbagai jenis tanaman hutan yang kaya metabolit sekunder (Adalina *et al*., 2024).

Beberapa penelitian terkait aktivitas *anti-acne* terhadap madu telah dilakukan, seperti penelitian Putri *et al*. (2022), yang menyimpulkan bahwa madu memiliki kandungan bioaktif senyawa fenolik dan efektif dalam membunuh bakteri penyebab jerawat. Penelitian Pasombak *et al*. (2021) menyimpulkan kandungan senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin menjadikan madu

bermanfaat sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antiseptik dalam perawatan jerawat (*acne vulgaris*). Penelitian Sun *et al*. (2019), menyimpulkan bahwa senyawa aktif tanin, saponin, dan flavonoid menunjukkan efektivitas antibakteri dengan zona hambat minimum (KHM) 6,7 mm pada konsentrasi 40% dan zona hambat maksimum (KBM) 20,4 mm pada konsentrasi 100%.

Bahan aktif yang terkandung dalam madu potensial untuk dikembangkan menjadi *anti-acne* karena memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamasi (Fahay, 2022). Karakter antibakteri dari madu juga berpeluang untuk menggantikan antibiotik sintetik karena termasuk dalam kategori antibiotik bahan alam (Feknous & Boumendjel, 2022). Pengembangan sediaan *anti-acne* dari madu masih belum banyak dilakukan, terutama dalam penggunaan madu lebah hutan asal Indonesia. Sediaan *anti-acne* dapat diformulasikan menjadi berbagai macam sediaan, salah satunya adalah sediaan serum yang memiliki komposisi dengan kandungan bahan aktif tinggi (Febriani *et al*., 2022). Serum memiliki efektivitas terapeutik dan kenyamanan saat diaplikasikan pada kulit (Pavlačková *et al*., 2020). Mekanisme kerja serum dilakukan melalui penghantaran bahan aktif yang difasilitasi oleh pembentukan lapisan tipis pada permukaan kulit, sehingga memaksimalkan penetrasi bahan aktif (Hasrawati *et al*., 2020). Penelitian dan

pengembangan madu lebah hutan asal Indonesia penting dilakukan untuk mengisi celah pengetahuan dan sebagai langkah invensi dalam pengaplikasian madu lebah hutan Indonesia sebagai sediaan kosmetik *anti-acne*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diulas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia, serta berapa besar zona hambatnya terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*?
2. Bagaimana aktivitas antiinflamasi ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia, serta berapa besar aktivitasnya secara *in vitro*?
3. Bagaimana memformulasikan sediaan serum *anti-acne* berbahan aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia?
4. Bagaimana karakteristik fisik dan biologis sediaan serum *anti-acne* berbahan aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia, serta menentukan besar zona hambatnya terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro.*
2. Menganalisis aktivitas antiinflamasi ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia, serta menentukan besar aktivitasnya secara *in vitro.*
3. Memformulasikan sediaan serum *anti-acne* berbahan aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia.
4. Mengevaluasi karakteristik fisik dan biologis sediaan serum *anti-acne* berbahan aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) asal Indonesia.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Manfaat Teoretis

Penelitian ini diharapkan dapat mengisi celah pengetahuan (*knowledge gap*) serta menjadi langkah

invensi dalam pengembangan ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*) sebagai sediaan *anti-acne*.

2. Manfaat Praktis

a. Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan menjadi landasan bagi penelitian lanjutan mengenai potensi *anti-acne* dari ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*), khususnya terhadap bakteri penyebab jerawat, serta sebagai bagian dari penyelesaian studi.

b. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi signifikan alternatif produk kosmetik pengobatan kulit berbahan alami bagi masyarakat. Adanya pengetahuan mengenai kandungan *anti-acne* dari ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*), masyarakat khususnya kalangan remaja hingga dewasa dapat mengoptimalkan penggunaan bahan yang lebih aman dan alami.

c. Bagi Penulis

Penelitian ini menjadi sarana bagi penulis untuk menerapkan teori dan praktik selama menempuh pendidikan Strata-1, serta memperluas keterampilan dalam riset bahan alam, uji biologis, dan formulasi produk yang berguna untuk pengembangan diri di bidang bioteknologi dan aplikasi ilmu biologi.

BAB II
LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Formulasi Serum

a. Formulasi

Formulasi merupakan suatu kombinasi dari dua atau lebih bahan dasar serta bahan aktif yang bertujuan untuk meningkatkan efektivitas suatu produk (Afrin & Gupta, 2023). Proses formulasi dilakukan dengan mempertimbangkan faktor ukuran partikel, bentuk, pH, dan kelarutan dari masing-masing komponen untuk menghasilkan produk yang optimal (Kumar *et al*., 2022). Salah satu aspek krusial dalam formulasi adalah memastikan bahwa bahan aktif diberikan dalam dosis yang tepat sehingga bioaktivitas dan khasiat dari bahan aktif dapat bekerja secara maksimal. Ketidakcocokan dosis dapat mengakibatkan penurunan efektivitas produk yang pada akhirnya dapat memengaruhi hasil terapeutik (Hidayah *et al*., 2021).

Pembuatan formulasi memerlukan langkah optimasi yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi bahan yang tepat. Langkah ini memiliki peran penting agar formulasi yang dihasilkan memiliki sifat yang optimal (Hajrin *et al*., 2021). Proses optimasi dapat dilakukan melalui penggunaan

formulasi standar yang didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya sebagai acuan (Suryani *et al*., 2017).

Tabel 2. 1 Formulasi Standar Serum *Anti-acne*

Bahan	Komposisi (%b/v)	Fungsi
Bahan aktif	10	*Anti-acne*
Karbopol	1,0	*Gelling agent*
Alginat	0,1	*Gelling agent*
Propilena glikol	15,0	*Humektan*
Asam sorbat	0,18	Pengawet
Asam benzoat	0,002	Pengawet
Akuades	100	Pelarut

(Hasrawati *et al*., 2020)
Keterangan : % b/v = % bobot/volume

Menurut Farmakope Indonesia (2020), monografi bahan dari formulasi standar serum *anti-acne* Tabel 2.1 sebagai berikut:

1). Karbopol

Karbopol merupakan polimer sintetis berasal dari asam akrilat yang digunakan sebagai bahan pembentuk gel, pengental, dan penstabil dalam berbagai produk terutama dalam industri kosmetik dan farmasi. Senyawa ini efektif bekerja pada kondisi pH rendah, dengan rentang pH berkisar antara 2,8 hingga 3,3. Pada sediaan farmasi,

karbopol digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk sebagai bahan *bioadhesive* (perekat alami), pengemulsi, penstabil emulsi, pensuspensi, dan pengikat tablet (Hamdi *et al*., 2023).

2). Alginat

Alginat merupakan polisakarida alami yang diperoleh dari dinding sel alga cokelat dan banyak digunakan dalam industri kosmetik, termasuk dalam formulasi serum. Alginat berperan sebagai agen pengental dan pembentuk gel yang membantu meningkatkan viskositas serta kestabilan produk, sehingga menghasilkan tekstur yang lebih konsisten dan nyaman saat diaplikasikan ke kulit. Selain itu, alginat mampu membentuk lapisan film tipis di permukaan kulit yang berperan dalam mempertahankan kelembapan serta mendukung pelepasan bahan aktif secara bertahap (Rahman *et al*., 2024).

3). Propilena glikol

Propilena glikol merupakan cairan kental jernih, tidak beraroma, dan bersifat higroskopis. Propilena glikol berperan sebagai pengawet, desinfektan, humektan, dan juga sebagai pelarut yang dapat bercampur dengan air. Senyawa ini konstan pada suhu ruang dan suhu rendah, namun pada suhu tinggi, propilena glikol dapat mudah teroksidasi menjadi berbagai senyawa yang dapat

memengaruhi kualitasnya. Selain itu, propilena glikol mudah larut secara stabil dalam etanol 95%, gliserin, dan air, sehingga dapat berperan sangat fleksibel dalam berbagai formulasi produk (Abraham, 2019).

4). Asam sorbat

Asam sorbat merupakan bahan pengawet organik antimikrob yang banyak digunakan dalam formulasi farmasi, produk kosmetik, dan makanan. Asam sorbat berfungsi untuk menjaga kestabilan produk dan mencegah kontaminasi mikroba selama penyimpanan dan pemakaian, terutama sediaan berbasis air yang rentan terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Asam sorbat bekerja optimal pada pH rendah hingga sedang (sekitar pH 4–7), sehingga sangat cocok digunakan dalam produk perawatan kulit wajah seperti serum yang umumnya diformulasikan dalam kisaran pH tersebut (Rollando, 2023).

5). Asam benzoat

Asam benzoat merupakan salah satu bahan pengawet yang umum digunakan dalam formulasi kosmetik termasuk sediaan serum berbasis air. Senyawa ini memiliki mekanisme kerja menghambat aktivitas enzim mikroorganisme sehingga mampu mencegah pertumbuhan dan kontaminasi selama penyimpanan produk. Efektivitas asam benzoat sebagai pengawet meningkat pada kondisi pH

rendah (umumnya di bawah pH 5). Pada formulasi kosmetik, asam benzoat sering digunakan secara tunggal maupun dikombinasikan dengan pengawet lain, seperti asam sorbat untuk memperluas spektrum antimikrob dan meningkatkan stabilitas produk (Rollando, 2023).

6). Akuades

Akuades adalah cairan bening yang tidak memiliki bau atau rasa dengan pH berkisar antara 5 hingga 7. Proses pembuatan akuades dilakukan dengan cara menyuling air yang telah memenuhi standar tertentu, sehingga air tersebut bebas dari kontaminasi atau zat tambahan lainnya. Akuades memiliki berbagai fungsi, salah satunya adalah sebagai pelarut dalam berbagai aplikasi (Khotimah, 2018).

b. Serum

Serum merupakan sediaan kosmetik yang diformulasikan dengan konsentrasi bahan aktif tinggi untuk memberikan manfaat pada permasalahan kulit secara spesifik (Mangle *et al*., 2024). Salah satu keunggulan serum adalah kemampuannya untuk menembus lapisan epidermis dan dermis sebagai tempat proses regenerasi kulit secara alami (Zhou *et al*., 2021). Hal ini memungkinkan bahan aktif mencapai target yang lebih dalam dan memberikan hasil yang lebih efektif dibandingkan produk lainnya (Hidayah *et al*., 2021).

c. Cara Kerja Serum

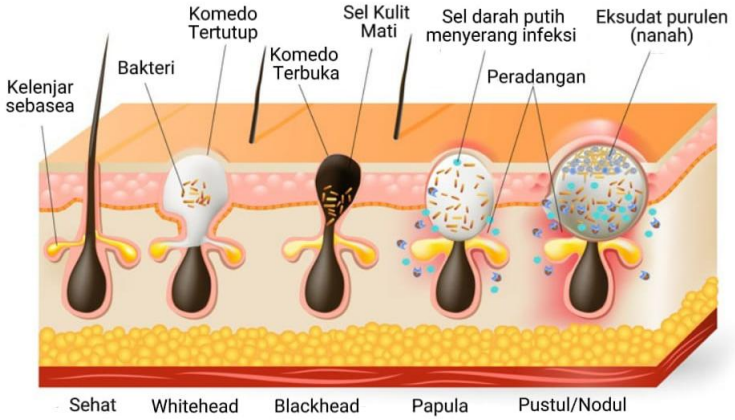
Serum bekerja pada kulit dengan cara memberikan nutrisi yang terkonsentrasi secara langsung ke lapisan kulit dermis, yaitu di bawah permukaan kulit (Zhou *et al*., 2021). Serum memiliki viskositas yang rendah dengan konsistensi cair dan tidak lengket, sehingga distribusi bahan aktif dapat merata dan efektif ke lapisan kulit (Patil *et al*., 2025). Selain itu, serum bekerja dengan membentuk lapisan tipis pada permukaan kulit yang tidak hanya membantu menjaga kelembapan, namun juga berperan dalam mengunci bahan aktif agar dapat berfungsi lebih lama dan lebih efisien. Serum dapat memberikan perawatan yang intensif dan menargetkan berbagai masalah kulit seperti infeksi jerawat, penuaan, hiperpigmentasi, atau dehidrasi (Ahdyani, 2020).

2. Jerawat

a. Definisi Jerawat dan Patogenesisnya

Menurut Sutaria *et al*. (2023), jerawat merupakan gangguan inflamasi kronis pada unit pilosebaseus yang dipicu oleh adanya infeksi bakteri penyebab jerawat akibat timbunan sebum pada kulit yang sangat aktif. Gambaran umum jenis-jenis jerawat terlihat pada Gambar 2.1 yang ditandai dengan munculnya titik putih atau hitam (*whitehead* dan *blackhead*), benjolan merah seperti bintil (papul atau nodul), dan nanah

pada kulit yang berminyak disertai kemerahan (pustul). Peradangan yang berlangsung lama akibat jerawat dapat merusak lapisan dermis kulit, sehingga menyebabkan terbentuknya jaringan parut yang berujung pada hiperpigmentasi (Parać *et al*., 2023).



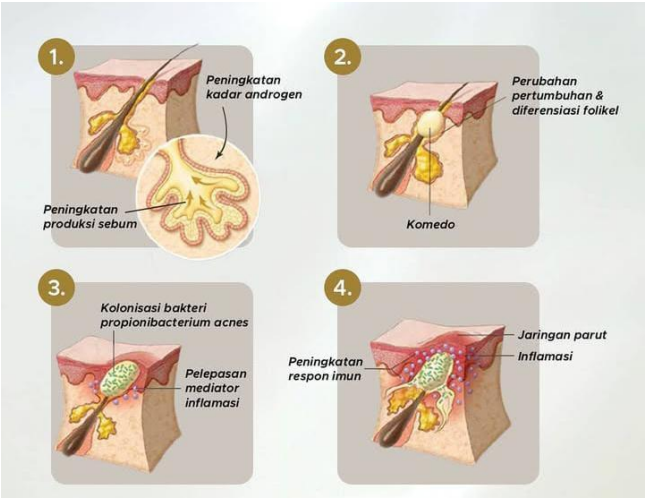
Gambar 2. 1 Jenis Jerawat (Mitsui, 1997)

Menurut *Chinese Guidelines for management of Acne vulgaris* (2019), terdapat empat tingkat jenis jerawat sesuai pada jenis lesi kulit pada Tabel 2.2, sebagai berikut:

Tabel 2. 2 *Grading Acne vulgaris*

Derajat	Jenis	Tingkatan	Keterangan
Ringan	Non-inflamasi	1	Komedo
Sedang	Inflamasi	2	Papul merah inflamasi
		3	Melibatkan pustul
Parah		4	Melibatkan nodul dan kista

Patogenesis jerawat secara umum ditunjukkan pada Gambar 2.2, yang diawali oleh stimulasi berlebih terhadap kelenjar sebasea, sehingga menyebabkan peningkatan produksi sebum terutama selama masa pubertas (Deng *et al*., 2024). Penumpukan keratinosit pada folikel pilosebaseus, yang diikuti oleh kolonisasi bakteri patogen, turut memberikan kontribusi signifikan terhadap pembentukan lesi jerawat (Mayslich *et al*., 2021). Bakteri penyebab jerawat seperti *P. acnes* dan *S. aureus*, mampu menghasilkan enzim lipase yang menghidrolisis trigliserida dalam sebum menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini bersifat iritatif dan dapat memicu respons inflamasi pada kulit sehingga memperburuk kondisi jerawat (Dessinioti *et al*., 2024).



Gambar 2. 2 Mekanisme Pembentukan Jerawat (Deng *et al*., 2024).

b. Faktor Penyebab Jerawat

Menurut Mitsui (1997), tiga faktor utama yang berperan dalam proses pembentukan jerawat, yaitu:

1). Sekresi Kelenjar Sebasea yang Hiperaktif

Pengeluaran sebum secara berlebih oleh kelenjar sebasea dipengaruhi oleh hormon tubuh seperti testosteron, estrogen dan progesteron. Hal ini menyebabkan pembentukan komedo yang merupakan lesi awal jerawat (Del Rosso *et al*., 2024). Penyumbatan pori oleh sebum dan sel-sel epitel yang mengalami hiperkeratinisasi memberikan lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan bakteri patogen, sehingga memicu respons inflamasi dan berperan dalam pembentukan lesi pada kulit (Mitsui, 1997).

2). Hiperkeratinisasi pada Infundibulum Rambut

Penebalan sel tanduk (hiperkeratinisasi) pada infundibulum folikel rambut dapat menyumbat pori dan menghambat pengeluaran sebum ke permukaan kulit. Lingkungan folikel yang tertutup, lembap, dan kaya kandungan lipid menciptakan kondisi sangat baik bagi pertumbuhan bakteri penyebab jerawat. Selain itu, kotoran pada wajah yang menyumbat pori-pori juga dapat memicu timbulnya jerawat (Mitsui, 1997).

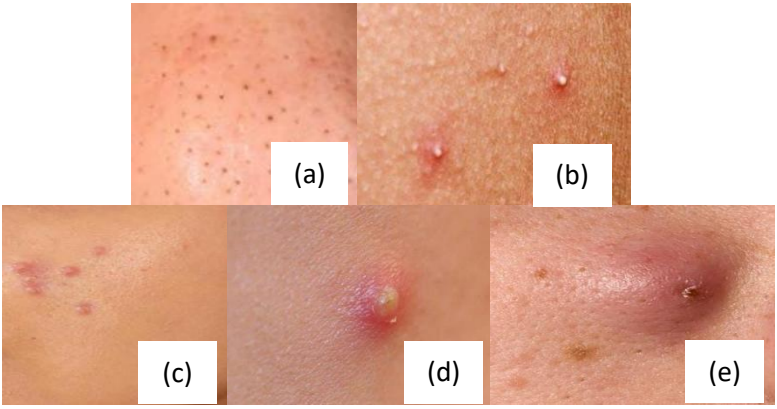
3). Infeksi Bakteri

S. aureus dan *P. acnes* merupakan bakteri patogen yang berperan dalam patogenesis jerawat. Kedua mikroorganisme ini mampu berkolonisasi pada folikel pilosebaseus dan memanfaatkan lingkungan kulit yang kaya sebum sebagai sumber nutrien. Aktivitas kolonisasi tersebut berpotensi mengganggu keseimbangan mikrobiota kulit dan memicu respons imun inang yang pada akhirnya dapat menyebabkan terjadinya proses inflamasi (Mitsui, 1997).

Faktor-faktor lain yang dapat memicu timbulnya jerawat antara lain genetik, makanan, psikis dan penggunaan produk kosmetik yang tidak sesuai (Borzyszkowska *et al*., 2022). Kontak langsung dengan tangan atau kuku yang tidak bersih dapat memperparah kondisi inflamasi dan menyebabkan jerawat menjadi lebih besar serta meradang (Zhang *et al*., 2022). Upaya pencegahan jerawat secara umum fokus pada tiga aspek utama, yaitu perbaikan kelainan folikel, meminimalisir produksi sebum berlebih, penurunan jumlah bakteri atau produk metaboliknya, serta pengendalian peradangan kulit (Mitsui, 1997).

c. Macam-macam Bentuk Jerawat

Menurut Wong *et al*. (2024), terdapat lima bentuk jerawat yang sering muncul pada wajah, yaitu *blackhead*, *whitehead*, papul, pustul dan nodul terlihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Macam-macam Bentuk Jerawat. (a) Jerawat *blackhead*, (b) Jerawat *whitehead*, (c) Jerawat papul, (d) Jerawat pustul, (e) Jerawat nodul (Wong *et al*., 2024).

1). *Blackhead*

Blackhead merupakan jenis jerawat yang terbentuk akibat penyumbatan sebagian folikel rambut oleh sebum dan sel kulit mati. Jerawat ini muncul sebagai titik berwarna gelap pada area hidung dalam jumlah yang relatif banyak. Jerawat ini bersifat *non-inflamasi* dengan kategori ringan sehingga tidak menyebabkan rasa sakit dan kemerahan (Febriyanti, 2023).

2). *Whitehead*

Whitehead merupakan titik kecil berwarna putih pada kulit akibat penyumbatan folikel rambut secara menyeluruh oleh sebum dan sel kulit mati. Kondisi ini sering kali ditemukan pada individu dengan kulit berminyak dan cenderung lebih sering terjadi pada wanita terutama selama masa pubertas, menstruasi, dan kehamilan. Sebum dan sel kulit mati yang menutupi permukaan pori menjadikan jerawat ini sulit untuk diobati secara efektif (Utama & Minerva, 2021).

3). Papul

Papul merupakan jenis jerawat yang muncul sebagai benjolan padat di lapisan hipodermis kulit disertai kemerahan dan bengkak. Kondisi ini muncul sebagai akibat dari respons inflamasi tubuh terhadap infeksi bakteri. Papul dapat merusak jaringan kulit di sekitarnya dan meninggalkan bekas hiperpigmentasi berwarna kecoklatan setelah sembuh (Larasati & Setyowati, 2022).

4). Pustul

Pustul merupakan jenis jerawat yang ditandai dengan adanya benjolan berisi nanah di lapisan epidermis kulit dengan warna kemerahan akibat peradangan. Jerawat ini terjadi akibat infeksi bakteri dan penyumbatan pori oleh sel kulit mati. Pustul sering kali disertai rasa nyeri dan dapat

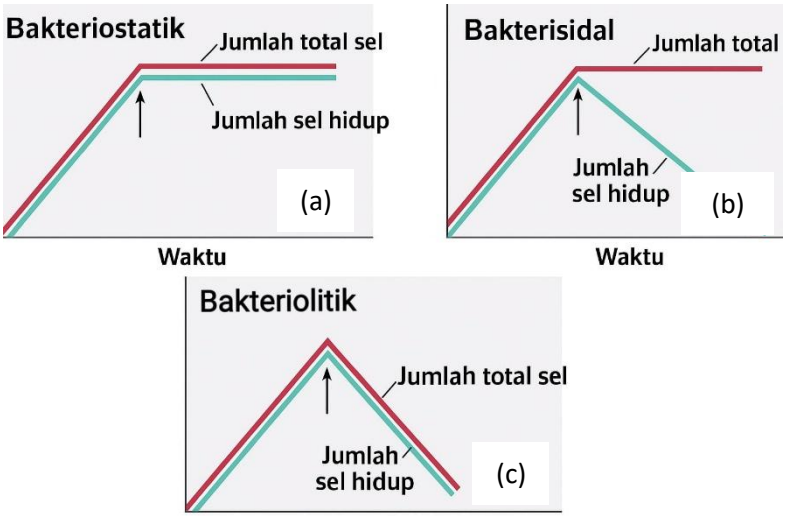
memengaruhi penampilan kulit, serta memerlukan perawatan yang tepat untuk mengurangi gejala dan mencegah penyebaran infeksinya (Achmad *et al*., 2021).

5). Nodul

Nodul merupakan jenis inflamasi yang muncul akibat penyumbatan folikel rambut dan infeksi bakteri. Bakteri ini memicu reaksi peradangan yang merusak jaringan kulit lebih dalam sehingga menyebabkan terbentuknya benjolan keras di bawah kulit. Setelah peradangan mereda, jenis jerawat ini sering kali meninggalkan bekas luka berupa hiperpigmentasi pasca inflamasi berwarna hitam atau kecoklatan (Rositasari, 2019).

3. Antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa yang dihasilkan secara alami atau sintetis untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penyebab infeksi (Emelda *et al*., 2023). Senyawa antibiotik bekerja melalui berbagai mekanisme, antara lain mengganggu sintesis dinding sel, merusak membran sel, menghambat proses metabolisme, atau menargetkan fungsi seluler esensial bakteri (Wulandari & Rahmawardany, 2022). Senyawa antibiotik memiliki tiga mekanisme utama dalam mengatasi jerawat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4:



Gambar 2. 4 Mekanisme antibiotik. (a) bakteriostatik, (b) bakterisidal, (c) bakteriolitik. Keterangan: tanda merah: total sel. tanda hijau: sel hidup, tanda panah: zat antibakteri (Madigan *et al*., 2015).

a. Bakteriostatik

Agen bakteriostatik bekerja dengan menghambat proses sintesis protein atau DNA pada sel bakteri, sehingga menghentikan proses pembelahan dan pertumbuhan sel tanpa menyebabkan kematian secara langsung (Loree & Lappin, 2018). Mekanisme kerja ini ditandai dengan kondisi jumlah sel hidup tetap stabil karena tidak terjadi proses perbanyakan, sedangkan struktur sel bakteri tetap utuh dan tidak mengalami kerusakan secara morfologis. Mekanisme

ini terlihat pada Gambar 2.4 (a), yang menunjukkan kurva datar pada jumlah total sel maupun sel hidup setelah perlakuan antibakteri. Efek dari agen bakteriostatik bersifat reversibel, yang artinya apabila penggunaan senyawa dihentikan, maka bakteri memiliki potensi untuk kembali aktif dan berkembang. Contoh bahan dengan mekanisme bakteriostatik antara lain kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida, sulfonamida, dan asam fusidat (Baquero *et al*., 2024).

b. Bakterisidal

Agen bakterisidal bekerja dengan membunuh sel bakteri secara langsung, meskipun tidak menyebabkan lisis atau kerusakan fisik total terhadap struktur sel (Ishak *et al*., 2025). Secara umum, kerja agen bakterisidal melibatkan gangguan terhadap proses metabolisme esensial bakteri, seperti penghambatan sintesis dinding sel atau inhibisi aktivitas enzim tertentu (Halawa *et al*., 2024). Mekanisme kerja agen bakterisidal terlihat pada Gambar 2.4 (b) melibatkan penurunan yang signifikan jumlah sel hidup, sedangkan jumlah total sel tetap konstan karena struktur fisik sel yang telah mati tetap dapat terdeteksi secara mikroskopis maupun kimiawi. Contoh bahan dengan mekanisme bakterisidal antara lain penisilin, streptomisin, ciprofloxacin, dan sefalosporin (Sartini & Karim, 2018).

c. Bakteriolitik

Agen bakteriolitik menunjukkan mekanisme kerja dengan merusak struktur dinding dan membran sel bakteri hingga menyebabkan lisis (Zimmerman *et al*., 2021). Mekanisme ini terlihat pada Gambar 2.4 (c) menyebabkan penurunan jumlah sel hidup secara bersamaan dengan penurunan jumlah total sel. Agen bakteriolitik bekerja dengan menghancurkan komponen struktural penting, seperti lapisan peptidoglikan atau fosfolipid membran yang dapat dilakukan melalui aktivitas senyawa atau enzim seperti lisozim (Madigan *et al*., 2015).

4. *Anti-acne*

Anti-acne merupakan bahan aktif atau formulasi terapeutik yang digunakan untuk mencegah, meredakan, atau mengobati timbulnya jerawat pada kulit (Zahrah *et al*., 2019). Mekanisme kerja agen *anti-acne* secara umum melibatkan aktivitas antiinflamasi, mengurangi produksi minyak (sebum), penghambatan pertumbuhan mikroorganisme penyebab jerawat, serta mendukung proses regenerasi jaringan kulit yang mengalami kerusakan (Madigan *et al*., 2015). Agen *anti-acne* secara spesifik menghantarkan bahan aktif secara langsung ke area kulit yang mengalami lesi, sehingga kerja

bahan aktif menjadi lebih terfokus dan risiko terhadap bagian tubuh lainnya dapat diminimalkan (Zahrah *et al*., 2019).

Asam azelaik merupakan salah satu agen topikal yang banyak digunakan dalam penanganan jerawat karena memiliki aktivitas antimikrob terhadap *P. acnes* dan bersifat komedolitik (Zimmerman *et al*., 2021). Selain itu, asam mandelat dari golongan asam alfa-hidroksi acid (AHA) digunakan untuk membantu eksfoliasi sel kulit mati dan memperbaiki tekstur kulit. Niacinamide sebagai turunan vitamin B3, menunjukkan efek antiinflamasi serta dapat memperbaiki fungsi barier kulit dan meredakan kemerahan (eritema) (Halawa *et al*., 2024). Penggunaan kombinasi bahan aktif secara sinergis dapat meningkatkan efektivitas terapi jerawat dan mengurangi potensi resistensi yang umum terjadi pada penggunaan jangka panjang (Sartini & Karim, 2018).

Bahan aktif alami banyak dikembangkan sebagai alternatif agen *anti-acne* yang lebih aman dan minim resistensi (Cristani & Micale, 2024). Ekstrak tumbuhan maupun produk hewani yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, serta enzim-enzim bioaktif diketahui memiliki aktivitas antimikrob dan antiinflamasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat serta meredakan peradangan (Koch *et al*, 2024). Mekanisme antimikrob senyawa bioaktif berkaitan dengan adanya gangguan dinding sel bakteri dan

penghambatan metabolisme mikroba, serta memiliki efek antiinflamasi melalui penekanan produksi mediator proinflamasi seperti prostaglandin (Al-Khayri *et al*., 2022).

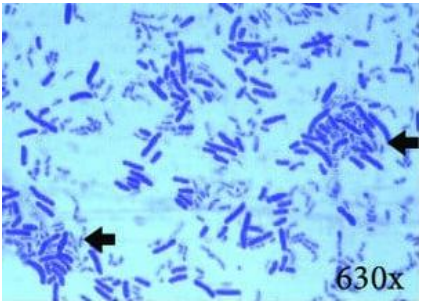
5. Bakteri Penyebab Jerawat

a. *Propionibacterium acnes*

P. acnes merupakan bakteri Gram-positif penyebab utama jerawat dengan struktur dinding sel tebal tersusun atas lapisan peptidoglikan (Chudzik *et al.,* 2022). Morfologi selnya berbentuk batang pendek (basil) dengan ujung meruncing atau bulat (kokoid) terlihat pada Gambar 2.5 (Mosca *et al*., 2025). Pertumbuhan *P. acnes* cenderung berlangsung lambat karena sifatnya sebagai anaerob obligat yang hanya tumbuh optimal pada lingkungan minim oksigen (Yu *et al*., 2024). Bakteri ini bersifat non-motil, tidak membentuk spora (*non-spore forming*) dan mampu menghasilkan enzim katalase sebagai agen pertahanan tubuh. Suhu optimalnya berkisar 30–37°C sesuai dengan suhu kulit manusia, sehingga mendukung kolonisasi bakteri pada area kelenjar sebum seperti wajah, dada, dan punggung (Mayslich *et al*., 2021).

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2016), *Propionibacterium acnes* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Actinobacteria
Class : Actinomycetia
Order : Propionibacteriales
Family : Propionibacteriaceae
Genus : *Propionibacterium*
Species : *Propionibacterium acnes*



Gambar 2. 5 *Propionibacterium acnes* perbesaran 630x (Yu *et al*., 2024)

P. acnes merupakan bagian dari mikrobiota kulit normal yang berperan dalam menjaga keseimbangan ekosistem mikroorganisme di permukaan kulit (Chudzik *et al.,* 2022). Pada kondisi fisiologis, keberadaan *P. acnes* dalam jumlah

seimbang berkontribusi terhadap stabilitas lingkungan kulit (Mayslich *et al*., 2021). Namun, perubahan fisiologis seperti peningkatan produksi sebum, fluktuasi kadar hormon androgen, perubahan pH kulit, atau gangguan pada fungsi barier kulit dapat memicu pertumbuhan berlebih *P. acnes*. Pertumbuhan berlebih ini mengubah sifat bakteri bersifat komensal menjadi patogen yang dapat memicu proses inflamasi pada unit pilosebaseus. Perubahan ini sering kali menjadi salah satu faktor utama dalam patogenesis jerawat, khususnya pada individu dengan predisposisi genetik atau respons imun yang lebih sensitif (Mosca *et al*., 2025).

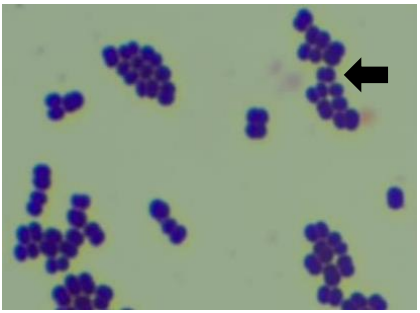
Mekanisme pertumbuhan *P. acnes* terjadi ketika sebum menumpuk di dalam unit pilosebaseus. Bakteri ini menghasilkan enzim lipase yang memecah minyak menjadi komponen lebih sederhana, seperti asam lemak bebas (Mosca *et al*., 2025). Senyawa ini bersifat iritatif terhadap dinding folikel dan mampu menginduksi aktivasi sel-sel imun seperti keratinosit, makrofag, dan neutrofil (Yu *et al*., 2024). Hasil metabolisme digunakan oleh bakteri *P. acnes* sebagai sumber energi untuk tumbuh dan berkembang biak. Aktivitas ini bersifat proinflamasi atau memicu peradangan, sehingga berperan signifikan dalam proses patogenesis jerawat (Murray *et al*., 2015).

b. *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram-positif yang memiliki dinding sel tebal tersusun dari lapisan peptidoglikan (Staudenmaier *et al*., 2022). Struktur morfologi khasnya terlihat pada Gambar 2.6 dengan bentuk kokus berkelompok tidak beraturan. Bakteri ini bersifat non-motil, tidak membentuk spora (*non-spore forming*), serta memiliki suhu pertumbuhan optimal pada 37 °C. S. *aureus* bersifat fakultatif aerob yang artinya bakteri ini memiliki sifat metabolisme yang fleksibel dalam hal kebutuhan oksigen sehingga dapat tumbuh baik dalam kondisi ada maupun tidak adanya oksigen dengan memanfaatkan berbagai substrat karbon untuk pertumbuhan metabolismenya (Richardson, 2019).

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2025), *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Staphylococcales
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. 6 *Staphylococcus aureus* perbesaran 10.000x (Abdillah & Kurniawan, 2022)

S. aureus termasuk bakteri patogen oportunistik yang berperan signifikan dalam proses inflamasi pada kulit, khususnya melalui pembentukan eksudat purulen atau nanah (Abdillah & Kurniawan, 2022). Bakteri ini secara alami dapat ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan mukosa, namun memiliki potensi patogenik ketika terjadi gangguan pada integritas atau keseimbangan lingkungan kulit. *S. aureus* memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim lipase yang dapat memecah lemak pada kulit, sehingga menghasilkan asam lemak yang dapat memicu peradangan dan berkontribusi pada proses pembentukan jerawat (Edbert *et al*., 2022).

Mekanisme patogenik *S. aureus* pada kulit yang berjerawat juga diperkuat oleh kemampuannya membentuk biofilm, yakni struktur matriks yang melindungi koloni bakteri dari serangan sistem imun maupun agen antimikrob (Abdillah

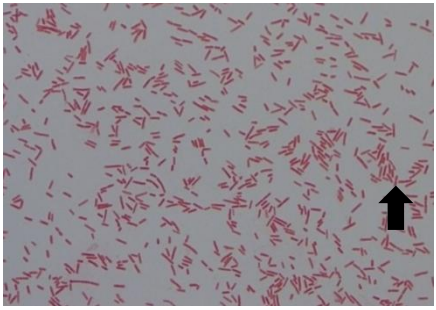
& Kurniawan, 2022). Kehadiran biofilm berperan dalam meningkatkan resistensi pengobatan dan memperpanjang respons inflamasi. Interaksi kompleks antara pembentukan biofilm, faktor virulensi seperti protein adhesin, enzim proteolitik, dan respons imun inang yang berlangsung secara terus-menerus maka dapat berkontribusi terhadap peningkatan keparahan lesi jerawat (Peng *et al*., 2022).

c. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif yang memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan tipis terletak di antara membran dalam (sitoplasmik) dan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS) (Hummels *et al*., 2023). Bakteri ini memiliki tubuh berbentuk batang (basil) yang bersifat aerob fakultatif dan motil dengan flagela tunggal terlihat pada Gambar 2.7. Suhu pertumbuhan *P. aeruginosa* berada pada kisaran suhu yang luas, yaitu antara 25–42°C, sehingga bakteri ini mampu bertahan dan berkembang dengan baik pada berbagai lingkungan, termasuk pada kondisi tubuh manusia maupun lingkungan luar yang lebih ekstrem (Pang *et al*., 2019).

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2025), *Pseudomonas aeruginosa* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Pseudomonadales
Family : Pseudomonadaceae
Genus : *Pseudomonas*
Species : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2. 7 *Pseudomonas aeruginosa* perbesaran 1000x (Hummels *et al.,* 2023)

P. aeruginosa dikenal sebagai patogen oportunistik yang sering menyebabkan infeksi nosokomial, seperti infeksi saluran kemih, infeksi luka, pneumonia, serta infeksi kulit dan jaringan lunak, terutama pada individu dengan sistem imun

lemah (Reynolds & Kollef, 2021). Kemampuannya dalam membentuk biofilm, adanya pompa effluks serta menghasilkan berbagai faktor virulensi seperti eksotoksin, enzim proteolitik (elastase, protease), dan pigmen piocianin (pigmen biru kehijauan) menjadikan bakteri ini sangat resisten terhadap berbagai antibiotik dan sulit diatasi. Produksi biofilm dan toksin berperan penting dalam kolonisasi bakteri dan kerusakan jaringan inang, sehingga berkontribusi besar terhadap patogenesis infeksi yang ditimbulkan (Pang *et al*., 2019).

6. Definisi Madu dan Karakteristiknya

a. Madu

Madu merupakan sekresi alami yang diproduksi lebah madu melalui proses biokimiawi dari nektar floral atau ekstrafloral (Alaerjani *et al*., 2022). Madu memiliki rasa khas manis, viskositas tinggi, dan warna yang bervariasi antara keemasan sampai dengan cokelat gelap tergantung pada sumber nektarnya, serta mengandung gula dalam jumlah tinggi namun rendah lemak. Madu bermanfaat dalam berbagai aplikasi, termasuk sebagai pemanis alami, agen terapeutik, dan bahan alami dalam produk kosmetik (Safitri & Purnobasuki, 2022).

Keberadaan madu sebagai produk alami memperoleh perhatian istimewa, tidak hanya dari perspektif ilmiah, tetapi juga dari sudut pandang keagamaan khususnya ajaran Islam. Hal ini menunjukkan bahwa madu tidak hanya bernilai sebagai bahan penelitian modern, tetapi juga memiliki pengakuan dalam ajaran agama. Al-Qur'an secara eksplisit menyebutkan manfaat madu bagi manusia, sebagaimana tertuang pada Surah An-Nahl ayat 68–69 yang berbunyi:

وَاَوْحٰى رَبُّكَ اِلَى النَّحْلِ اَنِ اتَّخِذِيْ مِنَ الْجِبَالِ بُيُوْتًا وَّمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُوْنَۙ ﴿٦٨﴾ ثُمَّ كُلِيْ مِنْ كُلِّ الثَّمَرٰتِ فَاسْلُكِيْ سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًاۗ يَخْرُجُ مِنْۢ بُطُوْنِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ اَلْوَانُهٗ فِيْهِ شِفَاۤءٌ لِّلنَّاسِۗ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيَةً لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ﴿٦٩﴾

Artinya: "Tuhanmu mengilhamkan kepada lebah, "Buatlah sarang-sarang di pegunungan, pepohonan, dan bangunan yang dibuat oleh manusia. Kemudian, makanlah (wahai lebah) dari segala (macam) buah-buahan lalu tempuhlah jalan-jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu)." Dari perutnya itu keluar minuman (madu) yang beraneka warnanya. Di dalamnya terdapat obat bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir" (Q.S. An-Nahl: 68-69).

Menurut Tafsir Al-Mishbah (dalam Rozi & Arif, 2023), ayat ini menggambarkan keajaiban dan anugerah yang

diberikan oleh Allah swt. melalui lebah. Allah swt. menciptakan lebah dengan mekanisme navigasi yang kompleks agar dapat mengeksplorasi lingkungan untuk mencari sumber makanan optimal dan kemampuan adaptasinya yang tinggi membantunya menemukan jalan kembali ke sarang. Lebah diperintahkan untuk mengonsumsi berbagai jenis nektar bunga dan buah-buahan dari berbagai sudut tempat yang dapat dijangkau supaya secara istimewa atas izin-Nya dari perut lebah dihasilkan minuman yang kaya akan manfaat yaitu madu. Allah swt. secara khusus menyingkapkan manfaat lebah dan madu kepada umat manusia sebagai agen pengobatan alami untuk berbagai macam penyakit (Hasanah & Utami, 2024).

Secara ilmiah, madu memiliki komposisi kimiawi khas yang dibutuhkan oleh tubuh seperti karbohidrat sederhana dan kompleks, berbagai vitamin larut air, mineral makro dan mikro, serta enzim aktif seperti diastase. Madu juga mengandung berbagai senyawa alami yang penting bagi kesehatan seperti *polyphenol*, flavonoid, dan glukosida (Cianciosi *et al*., 2018). Senyawa-senyawa ini telah teridentifikasi sebagai komponen yang memberikan manfaat kesehatan, seperti sifat antibakteri dan antiinflamasi (Hasanah & Utami, 2024).

b. Sifat Antibakteri Madu

Kompleksitas komposisi kimiawi madu menyebabkan variasi efektivitas terhadap berbagai spesies bakteri, baik Gram-positif maupun Gram-negatif (Dżugan *et al*., 2020). Perbedaan komposisi kimia dan sifat fisik madu turut memengaruhi kemampuan antibakterinya terhadap mikroorganisme yang berbeda (Elamine *et al*., 2020). Aktivitas antibakteri madu dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti tingginya kandungan gula, pH yang bersifat asam, kandungan hidrogen peroksida (H_2O_2), serta senyawa bioaktif lain yang bersifat antimikrob (Hossain *et al*., 2022).

Mekanisme utama aktivitas antibakteri madu berkaitan dengan tingginya kandungan gula yang menyebabkan sebagian besar molekul air dalam madu terikat, sehingga mengurangi ketersediaan air bebas yang diperlukan oleh bakteri untuk menjalankan aktivitas metabolisme (Almasaudi, 2021). Kondisi ini menciptakan tekanan osmotik yang tinggi, sehingga air dalam sel bakteri terdorong keluar menuju lingkungan madu. Akibatnya, sel bakteri mengalami dehidrasi, terganggunya fungsi fisiologis, dan pada akhirnya mengalami kematian. Stabilitas kandungan gula dalam madu juga memungkinkan sifat antibakterinya tetap aktif meskipun madu dilarutkan hingga 30–40% (Kunat-Budzyńska *et al*., 2023).

Keasaman alami madu juga berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Madu memiliki rentang pH cukup rendah, yaitu antara 3,2 hingga 4,5 (Machado *et al*., 2025). Keasaman madu dihasilkan dari adanya asam organik bervariasi dalam komposisi madu, sehingga efektif dalam menghambat atau mencegah pertumbuhan berbagai spesies bakteri yang umumnya berkembang dengan baik pada pH sekitar 7,2 hingga 7,4 (Molan, 1992).

Aktivitas antimikrob madu juga dipengaruhi oleh keberadaan komponen enzimatis yang aktif. Enzim glukosa oksidase berfungsi mengkatalisis pembentukan hidrogen peroksida (H_2O_2), yaitu senyawa antimikrob dengan sifat oksidatif tinggi (Nolan *et al*., 2019). Aktivitas enzim meningkat pada kondisi encer seperti madu, sehingga menghasilkan hidrogen peroksida dalam jumlah yang mampu merusak struktur sel bakteri serta menghambat pertumbuhannya (Molan, 1992).

Komponen bioaktif seperti flavonoid juga menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri. Flavonoid merupakan turunan dari senyawa fenol yang memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan membran sitoplasma sel bakteri (Liu *et al*., 2025). Flavonoid mampu meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma, sehingga memicu kebocoran ion dan molekul penting dari dalam sel bakteri termasuk protein, asam

nukleat, dan metabolit esensial lainnya. Kerusakan struktural yang terjadi menyebabkan terganggunya proses fisiologis sel, menghambat pertumbuhan, serta berujung pada kematian sel bakteri (Dzulasfi, 2021).

7. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa bioaktif atau komponen tertentu dari bahan alami seperti tumbuhan, hewan, atau produk alami lainnya menggunakan pelarut yang sesuai (Fatimatuzahro *et al*., 2019). Pemilihan metode ekstraksi sangat bergantung pada sifat fisik, kimia, kondisi suhu dan tekanan zat yang akan diekstraksi (Safitri *et al*., 2018). Ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu ekstraksi padat–cair dan ekstraksi cair–cair. Ekstraksi padat–cair dilakukan dengan melarutkan bahan padat (simplisia) ke dalam pelarut cair untuk memisahkan senyawa target, sedangkan ekstraksi cair–cair memanfaatkan perbedaan kelarutan senyawa dalam dua pelarut cair yang tidak saling bercampur untuk memisahkan komponen tertentu (Chua *et al*., 2021).

Efisiensi proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kuantitas dan derajat kehalusan simplisia, jenis pelarut yang dipilih, durasi ekstraksi, hingga kondisi lingkungan selama proses berlangsung. Faktor-faktor ini secara langsung memengaruhi jumlah dan konsentrasi

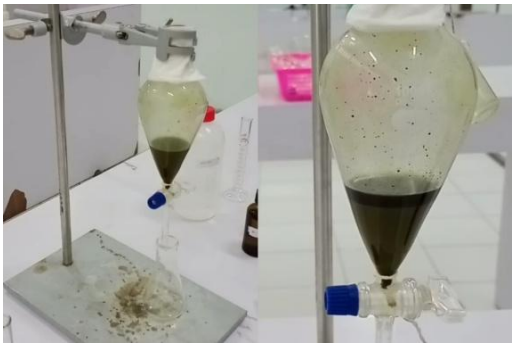
senyawa bioaktif yang dapat diperoleh dari bahan awal. Hasil ekstraksi secara umum merupakan campuran kompleks dari berbagai senyawa metabolit sekunder, sehingga untuk memperoleh senyawa murni diperlukan tahap pemisahan lebih lanjut yang dikenal sebagai fraksinasi (Zhang *et al*., 2018).

8. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan yang memanfaatkan perbedaan sifat kepolaran dan densitas senyawa dalam suatu campuran (Fatimatuzahro *et al*., 2019). Prinsip "*like dissolves like*" menjadi landasan utama dalam metode ini, sehingga senyawa polar akan lebih mudah larut dalam pelarut polar, senyawa semi-polar akan lebih mudah larut dalam pelarut semi-polar dan senyawa nonpolar akan lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar (Safitri *et al*., 2018). Tujuan utama fraksinasi adalah untuk memperoleh ekstrak fraksi yang mengandung senyawa target dengan tingkat kemurnian tinggi (Zhang *et al*., 2018).

Fraksinasi cair-cair adalah metode pemisahan yang memiliki prinsip dasar sederhana, efisiensi tinggi dalam pemisahan senyawa, serta fleksibilitas dalam penerapannya (Rahayuningsih, 2020). Fraksinasi cair-cair melibatkan penggunaan jenis pelarut yang memiliki sifat kepolaran berbeda, sehingga hasil pemisahan senyawa akan memiliki

sifat kepolaran yang bervariasi yaitu nonpolar hingga polar (Tungadi, 2020). Pemilihan pelarut yang tepat akan menghasilkan senyawa-senyawa target secara optimal dari campuran kompleks (Setiawan & Febriyanti, 2017).



Gambar 2. 8 Fraksinasi Cair-Cair menggunakan Corong Pisah (Rakhmat *et al*., 2020)

Proses pemisahan menggunakan metode fraksinasi cair-cair umumnya dilakukan menggunakan corong pisah terlihat pada Gambar 2.8. Fraksinasi melibatkan proses pencampuran dua fase yang dihomogenkan secara intensif guna meningkatkan kontak antar pelarut, kemudian dibiarkan hingga terjadi pemisahan fase secara sempurna. Fase atas umumnya memiliki densitas lebih rendah dengan kandungan senyawa-senyawa yang lebih sesuai dalam polaritas pelarut atas. Sebaliknya, fase bawah umumnya memiliki densitas lebih

tinggi dengan kandungan senyawa-senyawa yang lebih sesuai dengan polaritas pelarut bawah (Rakhmat *et al*., 2020).

9. Lebah Madu

Menurut Safitri & Purnobasuki (2022), spesies lebah madu yang dapat ditemukan di wilayah Indonesia meliputi:

a. Lebah Hutan (*Apis dorsata*)

A. dorsata merupakan salah satu spesies lebah dengan distribusi geografis terbatas pada wilayah subtropis dan tropis Asia Tenggara, meliputi Indonesia, Filipina, dan pulau-pulau di sekitarnya. Madu yang dihasilkan oleh lebah ini telah banyak dikenal sebagai madu lebah hutan yang memiliki reputasi baik di seluruh Asia karena kemurniannya yang tinggi. Namun, sifat agresif dan perilaku ganas dari lebah ini menjadikannya sulit untuk dibudidayakan hingga saat ini. Sarang lebah *A. dorsata* dibangun secara tunggal dengan struktur sisir yang terdiri dari satu lembaran menggantung di cabang-cabang pohon besar atau tebing-tebing batu. Ukuran sarang *A. dorsata* bervariasi dengan ketinggian dapat mencapai hingga 2 meter. *A. dorsata* dapat memproduksi madu sebanyak 15 hingga 25 kg per tahun (Mustafa *et al*., 2022).

b. Lebah Asia (*Apis cerana*)

A. cerana merupakan spesies lebah madu yang memiliki distribusi geografis yang luas di Asia, meliputi Afganistan, Cina, Jepang, dan Indonesia. Spesies ini menunjukkan kemampuan

adaptasi yang tinggi terhadap berbagai habitat. Madu yang dihasilkan oleh lebah *A. cerana* dapat dipanen hingga tiga kali dalam satu tahun. Produksi madu dari lebah ini dapat bervariasi antara 2 hingga 5 kg, tergantung pada kondisi lingkungan dan kesehatan koloni. Produksi madu *A. cerana* cenderung rendah apabila dibandingkan dengan spesies lebah lainnya, seperti *Apis mellifera* yang sering kali menghasilkan madu dalam jumlah yang jauh lebih besar (Safitri & Purnobasuki, 2022).

c. Lebah Coklat (*Apis mellifera*)

A. mellifera merupakan spesies lebah madu yang berasal dari Italia, namun telah berhasil beradaptasi dengan baik untuk budidaya di Indonesia. Lebah ini memiliki ukuran tubuh yang lebih panjang dan lebar apabila dibandingkan dengan *A. cerana*. Spesies ini memiliki temperamen yang lebih jinak sehingga lebih mudah untuk dibudidayakan. Namun, spesies ini lebih rentan terhadap berbagai penyakit dan parasit, yang dapat menjadi tantangan tersendiri bagi para peternak. Satu koloni *A. mellifera* dapat memproduksi madu sebanyak 35 hingga 40 kg per tahun dengan ketersediaan pakan dan air yang cukup (Safitri & Purnobasuki, 2022).

d. Lebah Kerdil (*Apis florea*)

A. florea memiliki ukuran tubuh terkecil dibandingkan dengan spesies lebah madu sejenisnya. Lebah ini tersebar di Asia Barat hingga kawasan India dan Indonesia. Pada habitat alaminya, *A. florea* sering kali memilih lokasi yang terbuka untuk membangun sarangnya. Sarang yang dibangun oleh koloni *A. florea* umumnya hanya memiliki satu sisiran yang menggantung di sehelai daun, melingkar pada cabang pohon, di dalam rongga tanah, goa, dan pohon. Lebah ini termasuk dalam kategori lebah liar dan tidak dibudidayakan karena hasil produktivitasnya yang rendah (Safitri & Purnobasuki, 2022).

e. Lebah Kecil (*Apis andreniformis*)

Lebah *A. andreniformis* merupakan spesies lebah madu asli Indonesia yang memiliki kebiasaan unik dalam membangun sarangnya secara mandiri tanpa bantuan lebah lain (soliter). Sarang lebah ini umumnya menggantung pada tempat-tempat yang tinggi seperti cabang pohon atau tebing sebagai bentuk adaptasi menghindari predator. Upaya domestikasi lebah ini masih terkendala oleh sifat agresif dan habitat alaminya yang sering kali berada di lokasi sulit dijangkau oleh manusia (Safitri & Purnobasuki, 2022).

f. Lebah Merah (*Apis koschevnikovi*)

Lebah madu *A. koschevnikovi* merupakan spesies baru yang dikenali oleh para ilmuwan dan belum banyak dipelajari secara luas. Spesies ini tersebar luas di wilayah Pulau Kalimantan dan Sumatera Barat. Lebah ini cenderung memiliki kemiripan dengan lebah *A. cerana*. Namun, salah satu ciri khas yang membedakannya adalah dominasi warna merah pada sebagian besar tubuhnya, serta ukuran tubuh yang sedikit lebih besar. *A. koschevnikovi* lebih produktif dalam menghasilkan madu dibandingkan dengan *A. cerana*, yang menjadikannya potensial untuk dimanfaatkan lebih lanjut dalam industri peternakan lebah. Meskipun demikian, karena spesies ini masih relatif kurang dipahami, penelitian lebih lanjut mengenai karakteristik, produktivitas, dan cara budidaya yang tepat masih diperlukan (Safitri & Purnobasuki, 2022).

g. Lebah Lokal Sulawesi (*Apis nigrocincta*)

A. nigrocincta atau lebih dikenal sebagai lebah madu bergaris hitam adalah spesies lebah yang ditemukan di Indonesia, khususnya wilayah Sulawesi. Madu yang dihasilkan oleh *A. nigrocincta* memiliki kualitas yang baik namun produksi madunya tidak sebanyak spesies lebah lainnya seperti *A. mellifera*. Pada kondisi optimal dengan ketersediaan pakan yang cukup, produksi madu *A. nigrocincta* hanya sekitar

5 hingga 10 kilogram per tahun. Rendahnya produktivitas ini dipengaruhi oleh karakteristik biologis spesies serta efisiensi pengumpulan nektar yang tidak sebanding dengan jenis lebah penghasil madu lainnya (Sum & Ow, 2021).

h. Lebah Tanpa Sengat (*Trigona* sp.)

Lebah madu *Trigona* sp. merupakan jenis lebah yang termasuk dalam genus *Meliponini* yaitu kelompok lebah madu tanpa sengat (*stingless bee*). Lebah madu *Trigona* sp. hidup secara berkoloni dan berperan krusial sebagai penyerbuk bagi berbagai jenis tanaman. Distribusi geografis lebah *Trigona* sp. meliputi wilayah Amerika Selatan dan Asia Selatan, namun telah beradaptasi dengan baik di berbagai habitat. Lebah ini menggunakan propolis sebagai perlindungan sarang dari predator sekaligus menjaga kestabilan suhu di dalamnya. Budidaya *Trigona* sp. berhasil dilakukan di berbagai wilayah, baik dataran rendah hingga dataran tinggi. Meskipun demikian, produksi madunya relatif rendah dibandingkan dengan jenis lebah lainnya, dengan rata-rata hanya sekitar 1 kg madu per tahun (Sabir & Sumidarti, 2017).

10. *Apis dorsata*

a. Klasifikasi dan Morfologi *Apis dorsata*

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2025), *Apis dorsata* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Class : Insecta
Order : Hymenoptera
Family : Apidae
Genus : *Apis*
Species : *Apis dorsata*



Gambar 2. 9 Lebah Hutan (*A. dorsata)* (Wibowo *et al*., 2022)

Lebah *A. dorsata* memiliki tubuh yang terbagi menjadi tiga bagian utama yaitu kepala, toraks, dan abdomen terlihat pada Gambar 2.9. Kepala lebah *A. dorsata* dilengkapi dengan mata majemuk dan mata tunggal (Uniyal *et al*., 2019). Mata majemuk berguna untuk melihat jarak jauh dan mengatur arah

pandangan, sedangkan mata tunggal berfungsi sebagai pendeteksi perubahan warna. Antena pada kepala berperan sebagai alat penciuman dan perasa. Mulut berbentuk tabung panjang digunakan untuk menghisap nektar dari bunga (Wibowo *et al*., 2022). Pada bagian toraks lebah, terdapat sepasang kaki dan sayap. Ujung kaki memiliki struktur tarsi yang dapat mendeteksi kandungan kimia pada serbuk sari tanaman (Zahara *et al*., 2022). Sayap depan lebah *A. dorsata* memiliki panjang sekitar 12–14 mm, sedangkan sayap belakang berukuran sekitar 4–5 mm. Bagian abdomen tersusun atas tujuh segmen yang tampak jelas secara morfologis. Pada segmen ketujuh, lebah ratu dan lebah pekerja terdapat alat sengat yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan diri. Warna abdomen lebah hutan ini didominasi oleh warna cokelat keemasan dengan pola garis-garis oranye yang mencolok (Erma & Purnobasuki, 2022).

b. Perbedaan Madu Lebah Hutan dan Madu Lain

Perbedaan antara madu lebah hutan dan madu lainnya dapat dilihat dari berbagai aspek. Pertama, madu lebah hutan dihasilkan oleh lebah dari spesies *A. dorsata*, sementara madu lain khususnya madu ternak dihasilkan oleh lebah dari spesies *A. cerana* atau *A. mellifera* (Wijayanti *et al*., 2022). Kedua, sarang lebah hutan berbentuk sisiran yang menggantung di pohon, batu, gua, atau tempat alami lainnya, sedangkan lebah

lain atau lebah ternak umumnya dipelihara dalam kotak atau stup khusus yang disediakan oleh peternak lebah (Muslim, 2014).

Lebah hutan mengambil nektar dan makanan langsung dari lingkungan alaminya tanpa campur tangan manusia, sedangkan lebah madu lain atau madu ternak sering kali memerlukan tambahan gula sebagai sumber makanan selama periode tertentu (Zahara *et al*., 2022). Berdasarkan segi rasa dan aroma, nektar yang dikumpulkan oleh lebah hutan cenderung lebih manis dan beraroma lebih tajam dibandingkan dengan madu dari jenis lebah lainnya. Selain itu, madu yang dihasilkan oleh lebah hutan memiliki kadar antioksidan yang jauh lebih tinggi dibandingkan madu dari lebah yang dibudidaya. Hal ini disebabkan oleh lingkungan alami yang bebas dari kontaminasi pestisida menjadikan madu lebah hutan lebih murni dan berkualitas sehingga dapat dianggap sebagai madu organik (Wijayanti *et al*., 2022).

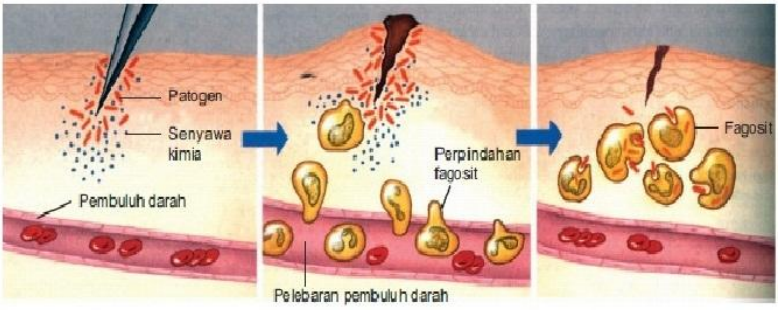
11. Antiinflamasi

a. Inflamasi

Inflamasi merupakan reaksi sistem kekebalan tubuh terhadap keberadaan zat asing yang masuk ke dalam tubuh organisme (Rara & Hidayat, 2023). Inflamasi ditandai dengan proses aktivasi sel-sel imun maupun non-imun guna melindungi tubuh dari serangan patogen dan mendukung

proses regenerasi pemulihan jaringan (Pahwa *et al*., 2023). Namun, inflamasi juga dapat berdampak negatif seperti menurunnya fungsi sistem imun, perubahan struktur jaringan dan organ, serta meningkatnya risiko berbagai penyakit (Moguel *et al*., 2022).

Inflamasi dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronis (Pahwa *et al*., 2023). Inflamasi akut berlangsung dalam waktu yang relatif singkat dengan gejala kemerahan (rubor), peningkatan suhu tubuh (kalor), nyeri (dolor), pembengkakan (tumor), serta gangguan fungsi pada area yang terkena inflamasi (Kumar *et al.,* 2020). Sementara itu, inflamasi kronis terjadi dalam jangka waktu yang lebih lama dengan respons yang didominasi oleh aktivitas sel-sel darah putih, terutama sel mononuklear seperti sel monosit dan sel limfosit (Pahwa *et al*., 2023).



Gambar 2. 10 Mekanisme terjadinya Inflamasi (Marek *et al*., 2023)

Mekanisme terjadinya inflamasi terlihat pada Gambar 2.10 yang ditandai dengan adanya kerusakan jaringan akibat suatu rangsangan (stimulus) sehingga menyebabkan sel mast pecah dan melepaskan zat-zat kimia yang disebut mediator inflamasi (Marex *et al*., 2023). Mediator ini memicu pelebaran (vasodilatasi) pembuluh darah di area yang mengalami inflamasi, sehingga aliran darah ke daerah tersebut meningkat (Nindia *et al.,* 2021). Peningkatan aliran darah menyebabkan perubahan volume darah dalam kapiler dan venula. Akibatnya, dinding pembuluh darah meregang dan menjadi lebih permeabel sehingga memungkinkan protein plasma keluar menuju jaringan sekitarnya (Kumar *et al.,* 2020). Perpindahan protein plasma menyebabkan akumulasi cairan dan menimbulkan adanya pembengkakan (edema). Sel-sel leukosit bermigrasi menuju lokasi inflamasi sebagai bagian dari respons imun (Anwar *et al*., 2024). Sel neutrofil dan monosit yang berasal dari aliran darah akan menempel pada dinding pembuluh venula, lalu bergerak menuju jaringan yang mengalami peradangan (Marek *et al*., 2023).

b. Antiinflamasi

Senyawa antiinflamasi bekerja dengan menekan respons peradangan melalui beberapa mekanisme, antara lain menghambat sintesis mediator peradangan seperti prostaglandin, menghambat pergerakan (migrasi) sel-sel

leukosit menuju area inflamasi, serta menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel yang memproduksinya (Mukhopadhyay *et al*., 2023). Penggunaan agen antiinflamasi menjadi salah satu strategi penting dalam pengendalian dan pemulihan kondisi inflamasi. Berdasarkan mekanisme kerjanya antiinflamasi terbagi dalam golongan sebagai berikut: (Das *et al.,* 2022)

1). Antiinflamasi-Steroid (SAID)

Obat yang termasuk dalam golongan antiinflamasi steroid berfungsi mengendalikan respons inflamasi dengan cara menekan atau menghambat berbagai komponen dalam proses peradangan di lokasi cedera (Kumar *et al.,* 2020). Mekanisme kerja obat ini menghambat enzim fosfolipase, yaitu enzim yang berperan dalam pelepasan asam arakidonat sebagai senyawa pemicu radang dari membran lipid sel (Wang *et al*., 2021). Penggunaan obat antiinflamasi golongan steroid dalam jangka panjang berpotensi menimbulkan efek samping serius, seperti peningkatan risiko terjadinya osteoporosis, khususnya pada tulang panggul dan tulang belakang, serta memperlambat proses penyembuhan luka (Pahwa *et al*., 2023). Contoh obat yang tergolong dalam antiinflamasi steroid antara lain prednison, hidrokortison, deksametason, dan betametason (Derouich *et al*,. 2020).

2). Antiinflamasi Non-Steroid (NSAID)

Obat yang termasuk dalam golongan antiinflamasi non-steroid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX), sehingga mengganggu proses perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin (Ghlichloo & Gerriets, 2019). Enzim siklooksigenase berperan penting dalam pembentukan prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat. Prostaglandin berfungsi sebagai molekul penyampai sinyal dalam proses terjadinya inflamasi. Namun, prostaglandin juga berperan penting dalam melindungi dinding lambung sehingga penghambatan sintesis prostaglandin pada mukosa lambung dapat menimbulkan efek samping berupa gangguan saluran cerna, seperti dispepsia, mual, dan gastritis (Mukhopadhyay *et al*., 2023). Obat yang termasuk dalam golongan antiinflamasi non-steroid antara lain ibuprofen, natrium diklofenak, aspirin, indometasin, fenilbutazon, dan piroksikam (Derouich *et al*,. 2020).

d. Metode Uji Antiinflamasi

Aktivitas antiinflamasi dapat diuji melalui dua pendekatan, yaitu metode *in vivo* dan *in vitro* (Rohmah & Yuanita, 2022). Metode *in vitro* lebih banyak digunakan karena efektif, tidak memerlukan hewan uji, membutuhkan sampel lebih sedikit, serta waktu pengerjaan yang relatif singkat. Salah

satu metode *in vitro* yang umum digunakan adalah uji inhibisi denaturasi protein (Ikrom *et al*., 2019).

Denaturasi protein merupakan proses perubahan struktur sekunder dan tersier akibat paparan panas atau bahan kimia yang menyebabkan hilangnya fungsi biologis protein, sehingga dapat memicu kerusakan sel, gangguan metabolisme, dan peradangan (Farida *et al*., 2018). Metode ini menggunakan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai indikator untuk merepresentasikan respons inflamasi yang terjadi akibat denaturasi atau kerusakan protein (Rakha *et al*., 2022). Senyawa yang mampu menghambat denaturasi protein memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi (Minarti *et al*., 2021).

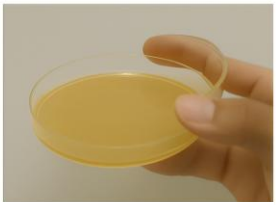
Pada proses pemanasan, struktur protein BSA akan berubah, hal ini dapat diamati secara visual melalui perubahan warna larutan dari jernih menjadi keruh atau putih. Semakin jernih larutan, semakin kecil derajat denaturasi yang terjadi (Rara & Hidayat, 2023). Perubahan ini kemudian dianalisis secara kuantitatif dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antiinflamasi dianggap signifikan apabila nilai inhibisi melebihi 20% (Laksmitawati & Tiffani, 2020).

12. Uji Aktivitas Antibakteri: Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan metode pengujian aktivitas antibakteri untuk mengukur kerentanan bakteri terhadap senyawa aktif (Gajic *et al*., 2022). Metode ini melibatkan aplikasi zat antibakteri pada media kultur yang telah diinokulasi dengan bakteri patogen penyebab jerawat. Metode ini umum digunakan karena sederhana, efisien, dan mampu memberikan hasil kuantitatif awal terhadap potensi antibakteri suatu bahan (Davis & Stout, 1971).



(1) Inokulasi bakteri ditambahkan dalam medium agar nutrien.



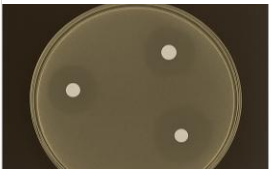
(2) Agar nutrien berisi inukolasi bakteri dituang merata pada cawan petri yang berisi media steril.



(3) Kertas cakram antibiotik diletakkan pada permukaan agar.



(4) Cawan berisi media pengujian diinkubasi.



(5) Kertas cakram antibiotik menunjukkan zona hambat.



(6) Zona hambat diukur menggunakan kaliper digital.

Gambar 2. 11 Prosedur Metode Difusi Cakram (Priya *et al*., 2023)

Metode difusi cakram terlihat pada Gambar 2.11 bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari suatu zat tertentu (Khan *et al*., 2019). Metode ini dilakukan dengan cara menyiapkan kertas cakram sebagai pembawa zat uji kemudian ditempatkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan kultur bakteri target. Posisi penempatan kertas cakram perlu diperhatikan agar tidak terlalu dekat satu sama lain sehingga zona hambat yang terbentuk dapat diamati dengan jelas (Gajic *et al*., 2022). Setelah penempatan kertas cakram, media diinkubasi dalam kondisi yang sesuai selama 24 jam atau lebih, tergantung pada jenis bakteri yang diuji. Setelah periode inkubasi selesai, dilakukan pengamatan untuk mengukur dan menghitung zona hambat di sekitar kertas cakram (Priya *et al*., 2023).

Zona hambat merupakan area pertumbuhan bakteri terhambat akibat pengaruh zat antibakteri yang terkandung dalam kertas cakram (Davis & Stout, 1971). Luas dan ukuran zona hambat digunakan sebagai indikator untuk menilai efektivitas zat antibakteri dalam mengendalikan pertumbuhan bakteri yang diuji (Elfitra & Saskiawan, 2020). Efektivitas antibakteri didasarkan pada besaran pembentukan zona hambat ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2. 3 Klasifikasi Antibakteri Berdasarkan Ukuran Zona Hambat Bakteri

Diameter Zona Hambat	Respons Hambatan Pertumbuhan
≥21 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
≤5 mm	Lemah

(Davis & Stout, 1971)

13. Uji Sediaan Serum

Uji sediaan serum merupakan evaluasi yang dilakukan untuk memastikan kualitas, keamanan, dan efektivitas suatu produk serum (Ristianti *et al*., 2023). Uji ini mencakup berbagai aspek, antara lain pengujian seperti homogenitas, viskositas atau daya sebar, dan pH. Tujuan utama pengujian sediaan serum adalah untuk memastikan keamanan dan efektivitas produk terhadap kulit (Hasrawati *et al*., 2020).

a. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan untuk menilai keseragaman distribusi bahan aktif dalam sediaan serum. Sediaan serum yang baik menunjukkan struktur yang homogen tanpa adanya butiran kasar yang tampak. Pengujian dilakukan dengan mengoleskan sampel serum pada selembar kaca atau bahan transparan lainnya yang sesuai. Homogenitas yang baik menjamin bahwa setiap

penggunaan serum memberikan dosis bahan aktif yang konsisten (Hasrawati *et al*., 2020).

b. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar merupakan parameter penting dalam evaluasi kualitas serum. Semakin baik daya sebar suatu serum, maka semakin efektif bahan aktif dapat terdistribusi secara optimal dan memberikan manfaat pada kulit. Uji daya sebar dilakukan untuk mengukur jarak penyebaran serum pada permukaan kulit dalam waktu tertentu. Rentang daya sebar yang optimal umumnya berkisar antara 5 hingga 7 cm (Hasrawati *et al*., 2020).

c. Uji pH

Prosedur ini dilakukan dengan mencelupkan kertas pH ke dalam sediaan serum hingga kertas terendam sepenuhnya. Perubahan warna pada kertas pH diamati dan dibandingkan dengan standar warna pH universal yang telah ditentukan. Nilai pH harus sesuai dengan standar yang ditetapkan dalam SNI 12-3524-1995, yaitu berada dalam rentang antara 4,5 hingga 7 sebagai indikasi untuk memenuhi persyaratan mutu (Tan & Lio, 2025).

Rentang pH sesuai dengan standar merupakan parameter penting dalam formulasi sediaan serum. pH yang berada di dalam rentang standar akan memastikan bahwa serum memiliki sifat fisikokimia yang stabil, tidak mudah

terdegradasi, dan tidak menyebabkan iritasi pada kulit. Selain itu, pH yang sesuai juga akan memengaruhi efektivitas bahan aktif dalam serum, sehingga dapat memberikan manfaat yang optimal bagi kulit (Hasrawati *et al*., 2020).

14. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer merupakan alat yang terdiri atas dua bagian utama, yaitu spektrometer dan fotometer. Spektrometer berfungsi menghasilkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer berperan dalam mengukur intensitas cahaya yang diteruskan atau diserap oleh sampel. Alat ini digunakan untuk mengukur energi secara relatif berdasarkan proses transmisi, refleksi, atau emisi cahaya sebagai fungsi dari panjang gelombang (Saravanan *et al*., 2021).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu instrumen standar yang digunakan secara luas dalam berbagai penelitian laboratorium, termasuk analisis kandungan senyawa bioaktif maupun aktivitas biologis bahan alam (Casoni *et al*., 2024). Spektrofotometri UV-Vis umumnya diaplikasikan dalam bidang farmasi, kimia, dan biologi karena mampu menghasilkan data kuantitatif secara cepat, akurat, dan dengan prosedur yang relatif sederhana. Metode ini

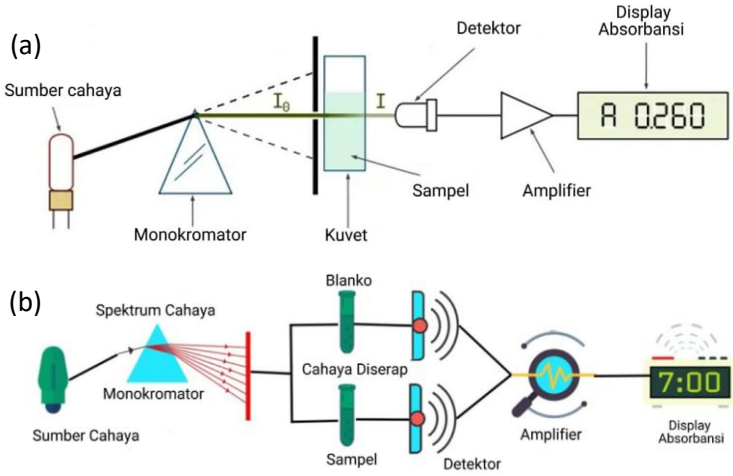
memiliki sejumlah keunggulan, antara lain sensitivitas yang tinggi, kebutuhan sampel yang relatif kecil, serta fleksibilitas dalam menganalisis berbagai jenis larutan (Gosh & Nandi, 2024).

Spektrofotometer bekerja berdasarkan hukum *Lambert-Beer* yang menyatakan bahwa intensitas cahaya yang diserap oleh suatu larutan berbanding lurus dengan konsentrasi zat terlarut di dalamnya (Saravanan *et al*., 2021). Komponen utama dari spektrofotometer meliputi sumber cahaya, monokromator, kuvet, detektor, dan sistem pembaca data. Sumber cahaya menghasilkan radiasi elektromagnetik yang kemudian difokuskan dan dipisahkan oleh monokromator untuk memperoleh panjang gelombang tertentu. Cahaya ini kemudian melewati kuvet berisi sampel, sehingga sebagian dari cahaya akan diserap oleh zat yang ada di dalam larutan. Detektor mengukur intensitas cahaya yang diteruskan dan mengubah menjadi amplifier (sinyal listrik) yang dapat dibaca sebagai nilai absorbansi (Onatayo *et al*., 2023).

Secara umum, terdapat dua jenis spektrofotometer yang sering digunakan, yaitu tipe *single-beam* dan *double-beam*. Spektrofotometer *single-beam* bekerja dengan mengukur absorbansi pada satu panjang gelombang tertentu, dan memiliki keunggulan dari segi kesederhanaan alat serta harga yang lebih terjangkau (Gosh & Nandi, 2024). Rentang panjang

gelombang pada alat ini berkisar antara 190 hingga 1000 nm. Mekanisme kerja spektrofotometer *single beam* terlihat pada Gambar 2.12 (a) (Onatayo *et al*., 2023).

Sementara itu, spektrofotometer *double-beam* terlihat pada Gambar 2.12 (b) menggunakan pemisah sinar berbentuk huruf V untuk membagi cahaya menjadi dua jalur, yaitu menuju larutan sampel dan larutan blanko secara bersamaan. Spektrofotometer *double-beam* memiliki akurasi lebih tinggi namun alat ini lebih kompleks dan mahal (Chittasupho *et al*., 2022). Pengukuran nilai absorbansi sebagai dasar perhitungan persentase inhibisi aktivitas antiinflamasi dalam penelitian ini dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis tipe *single-beam* yang secara teknis telah memenuhi syarat untuk analisis absorbansi pada pengujian bioaktivitas.



Gambar 2. 12 Mekanisme Kerja Spektrofotometer *Single beam* (a) Spektrofotometer *Double beam* (b) (Onatayo *et al*., 2023).

B. Penelitian yang Relevan

Penelitian yang relevan mengenai analisis aktivitas antibakteri dan *anti-acne* dari madu telah banyak dilakukan. Namun, belum ditemukan penelitian yang secara spesifik memiliki kesamaan dengan rancangan dan metode penelitian yang dilaksanakan dalam studi ini.

Tabel 2. 4 Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
1.	Antimicrobial Effect of Honey Phenolic Compounds against *E. coli*—An In Vitro Study, (Laura Kassym, Assiya Kussainova, Yuliya Semenova & Pauline McLoone, *Journal Pharmaceuticals*, 2024).	Metode Difusi Agar	Sifat antibakteri asam 3-fenilaktat, asam *p*-coumaric, dan phloretin yang terdapat dalam madu menunjukkan adanya efektivitas sebagai antibakteri terhadap *E. coli.*	Penelitian ini hanya berfokus pada aktivitas antibakteri madu secara umum dengan menggunakan bakteri pengujian *E. coli* sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus secara spesifik menganalisis aktivitas antibakteri dan antiinflamasi ekstrak fraksi madu *(Apis dorsata)* pada bakteri penyebab jerawat.

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
2.	Formulasi Masker Anti Jerawat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Madu terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*, (Putri Wali, Muhammad Asri SR, dan Sriyanty Sadsyam, *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology,* 2024).	Metode difusi agar.	Zona hambat yang dihasilkan dari masing-masing formulasi adalah 17,2 mm (kuat) pada formulasi 1, 19,6 mm (kuat) pada formulasi 2, dan 19,8 mm (kuat) pada formulasi 3, sedangkan kontrol positif Benzolac menghasilkan zona hambat sebesar 21,9 mm (sangat kuat).	Penelitian ini berfokus pada hasil akhir formulasi masker dari kombinasi bahan alami ekstrak pepaya dan madu terhadap satu bakteri uji penyebab jerawat sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada hasil akhir formulasi serum yang hanya spesifik dari satu bahan alami yaitu ekstrak fraksi madu dengan dua bakteri uji penyebab jerawat dan satu bakteri uji sebagai pembanding.

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
3.	Formulation and evaluation of ointment for acne treatment.(Veerabu vaneshwari Veeri Veerichetty., Iswar yalakshmi S. & Aarushi Pradeep, *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 2023).	Metode Difusi Agar	Sediaan salep yang berasal dari kombinasi dua bahan herbal terbukti efektif dalam berbagai pengujian, seperti pengujian anti bakteri, pengujian KHM dan pengujian analisis turbidimetri.	Penelitian ini berfokus pada efektivitas formulasi salep dari kombinasi dua bahan herbal dengan berbagai pengujian antibakteri tanpa adanya variasi konsentrasi yang digunakan sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada efektivitas satu bahan alami dengan adanya variasi konsentrasi sehingga hasil penelitian lebih fokus dan spesifik pada berbagai konsentrasi, baik konsentrasi rendah hingga konsentrasi tinggi.

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
4.	Formulation and Evaluation of a Poly Herbal *Anti-Acne* Fruit Face Wash Gel, (Davuluri Mamatha, Amardeep Kaur, Gorenkala Madhu, Pandre Maneesha & Pisikala Mounika, *Future Journal of Pharmaceuticals and Sciences*, 2022).	Metode Difusi Agar	Komponen dari berbagai konsentrat bahan alami yang terkandung dalam gel pembersih wajah organik efektif dalam memberikan hambatan yang lebih baik terhadap mikroorganisme kulit penyebab jerawat.	Penelitian ini berfokus pada hasil kombinasi bahan alami dalam gel pembersih wajah tanpa spesifik hingga pengujian optimasi sediaan gel sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada efektivitas ekstrak fraksi madu sebagai bahan alami tunggal yang di formulasikan dalam sediaan serum secara spesifik hingga pengujian optimasi serum untuk mengevaluasi efektivitas produk.

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
5.	Uji Aktivitas Antibakteri pada Macam-macam Madu pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar dan Dilusi cair, (Siti Aisyah Ratna Putri, FX Haryanto Susanto, Sabrina Handayani Tambun, dan Teguh Oktiarso, *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi,* 2022).	Metode Difusi Agar dan Dilusi Cair	Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa sampel madu yang telah dianalisis mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan memiliki aktivitas antibakteri. Namun, madu rambutan tidak efektif membunuh bakteri *Escherichia coli*.	Penelitian ini berfokus pada berbagai jenis sampel madu dengan analisis fitokimia madu secara umum sementara penelitian yang akan dilakukan hanya berfokus pada satu jenis madu yaitu madu lebah hutan (*Apis dorsata*) namun dilakukan analisis lanjutan dengan metode fraksinasi cair-cair dengan pelarut tertentu sehingga kandungan senyawa yang dihasilkan lebih murni.

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
6.	Uji Sensitivitas Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) terhadap Bakteri *P. acnes* Penyebab *Acne Vulgaris*, (Fatimah Marwah, Sri Julyani, Rasfayanah, Dian Amelia A., dan Yani Sodiqah, *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 2022).	Metode *disk diffusion*	Pemberian madu lebah hutan (*Apis dorsata*) berbagai konsentrasi dapat menghambat bakteri *P. acnes*, dengan zona hambat tertinggi sebesar 24 mm konsentrasi 100% dan terendah 16 mm konsentrasi 50%.	Penelitian ini berfokus pada pengujian madu lebah hutan (*Apis dorsata*) tanpa analisis lebih lanjut hingga pengaplikasiannya sebagai *anti-acne* sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada pengujian antibakteri dan antiinflamasi dari ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) hingga aplikasinya dalam bentuk sediaan serum *anti-acne.*

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
7.	Screening Fitokimia dan Penetapan Potensi Madu Hutan sebagai Agen Antibakteri terhadap Bakteri *Propinibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus*, (Krisyanella, Zamharira Muslim, Resva Meinisasti, dan Putra Adi Irawan, *Jurnal Farmasi Higea*, 2021).	Metode Difusi Agar dan Dilusi Cair.	Metabolit sekunder pada madu hutan yang cukup tinggi memberikan potensi antibakteri efektif terhadap bakteri *Propinibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus.*	Penelitian ini berfokus pada analisis kandungan fitokimia dan potensi madu hutan sebagai antibakteri secara umum sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada potensi ekstrak fraksi madu lebah hutan secara spesifik sebagai antibakteri dan antiinflamasi hingga hasil akhir sebagai produk sediaan serum *anti-acne.*

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
8.	Uji Efektivitas Antibakteri Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) terhadap *Staphylococcus aureus*, (Dzul Asfi dan Sri Yulianti, *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 2021).	Metode Difusi Agar	Madu lebah hutan (*Apis dorsata*) mempunyai efektivitas terhadap *Staphylococcus aureus*, pada konsentrasi 15% rata-rata diameter zona hambat yang didapatkan yaitu 22 mm termasuk dalam klasifikasi hambatan pertumbuhan yang kuat.	Penelitian ini berfokus pada efektivitas antibakteri madu lebah hutan (*Apis dorsata*) terhadap *Staphylococcus aureus*, sementara penelitian yang akan dilakukan bertujuan menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) terhadap tiga bakteri uji, yaitu *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*

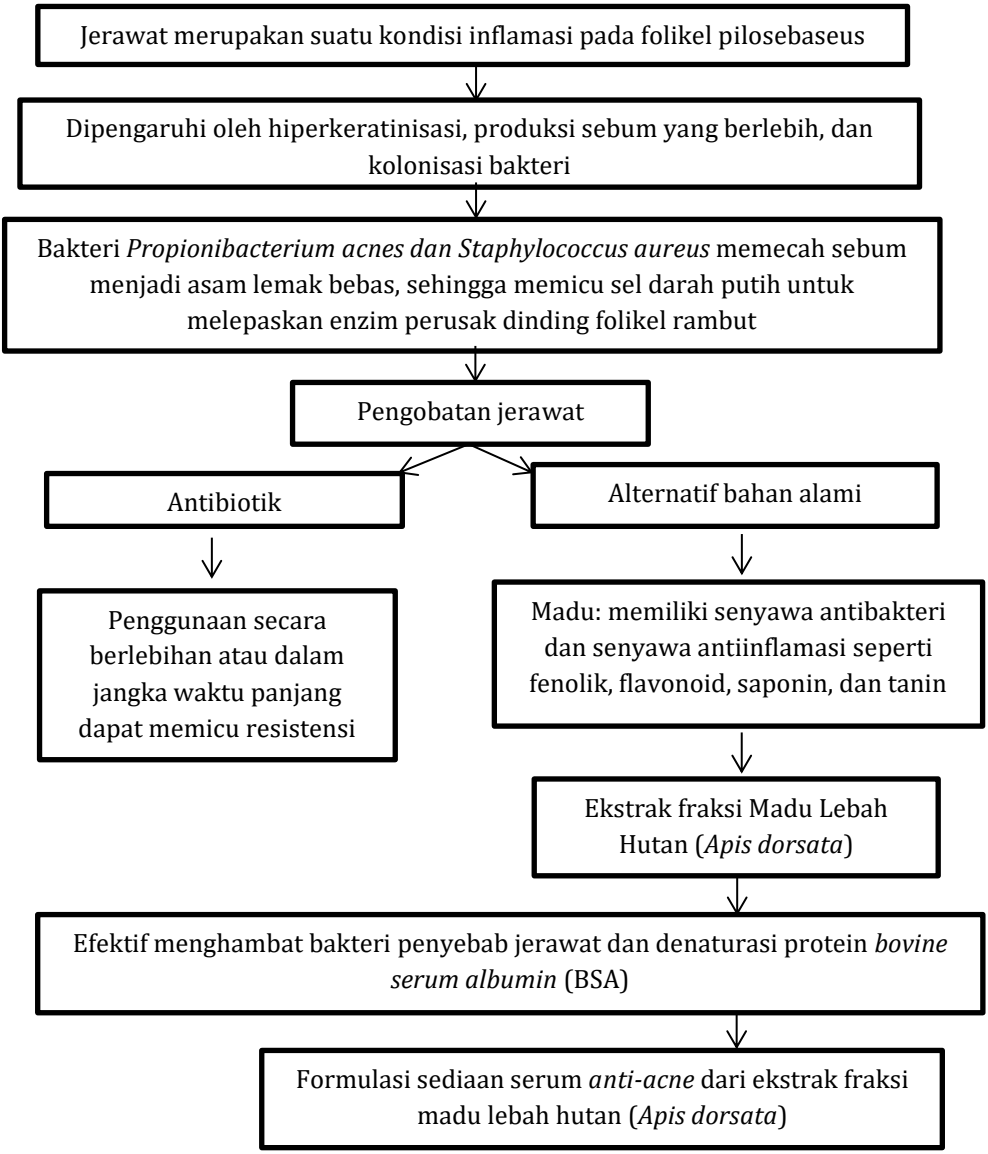
Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
9.	Madu Kele Bali dan Kombinasinya dengan VCO sebagai *Anti-acne*, (Ni Putu Eka Leliqia, Ni Kadek Cornelia Ayu Trisna , dan Ni Luh Putu Vidya Paramita, *Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 2021).	Metode difusi agar dan dilusi	Kombinasi madu kele Bali dan VCO dapat menjadi alternatif yang efektif dalam mengatasi bakteri penyebab jerawat *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* dibandingkan dengan penggunaan tunggal salah satu bahan tersebut. Hasil menunjukkan bahwa madu kele Bali dan kombinasi VCO berpotensi dikembangkan sebagai produk *anti-acne*.	Penelitian ini berfokus pada sampel madu Kele Bali dan kombinasi dari minyak kelapa (VCO) sehingga sifat *anti-acne*nya tidak spesifik hanya dari sampel madunya saja sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada satu sampel yaitu ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) sehingga sifat antibakteri dan antiinflamasi yang dihasilkan dapat bersifat spesifik.

Tabel 2. 4 Lanjutan Penelitian yang Relevan

No.	Judul, Penulis, Jurnal dan Tahun	Metode	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
10.	Uji Aktivitas Antibakteri Madu Hitam Pahit dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Esherichia coli* di Laboratorium Analisis Kesehatan Politeknik Piksi Ganesha Bandung, (Ria Khoirunnisa Apriyani dan Sindi Cantika, *Jurnal INFOKES-Politeknik Piksi Ganesha,* 2020).	Metiode difusi *Kirby-Bauer*.	Madu hitam pahit memiliki potensi antibakteri terhadap *Escherichia coli*, dengan zona hambat 3,3-7,3 mm pada konsentrasi 20%-100%, konsentrasi 100% paling efektif dengan zona hambat 7,3 mm (kategori sedang).	Penelitian ini hanya berfokus pada aktivitas antibakteri secara umum dengan satu jenis bakteri uji yaitu *Escherichia coli* sementara penelitian yang akan dilakukan berfokus pada aktivitas antibakteri dan uji tambahan antiinflamasi secara spesifik.

C. Kerangka Berpikir



Gambar 2. 13 Kerangka Berpikir

D. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Hipotesis 1

H_0 : Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) tidak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*, sehingga tidak menunjukkan potensi sebagai bahan aktif serum *anti-acne.*

H_1 : Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai bahan aktif serum *anti-acne.*

Hipotesis 2

H_0 : Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) tidak memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan secara *in vitro*, sehingga tidak dapat mendukung efektivitasnya sebagai bahan aktif *anti-acne.*

H_1 : Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan secara *in vitro*, sehingga dapat mendukung efektivitasnya sebagai bahan aktif *anti-acne.*

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental deskriptif kuantitatif dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri atas dua jenis pengujian, yaitu uji antibakteri dan uji antiinflamasi.

Pada uji antibakteri, perlakuan menggunakan tiga ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*), yaitu n-heksana, etil asetat, dan air, masing-masing pada tiga variasi konsentrasi: 10.000 bpj, 50.000 bpj, dan 100.000 bpj. Perlakuan diuji sebanyak tiga kali ulangan, dengan dua kontrol: kloramfenikol 100 bpj sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif.

Pada uji antiinflamasi, perlakuan juga menggunakan tiga ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*), yaitu n-heksana, etil asetat, dan air, masing-masing pada satu konsentrasi, yaitu 1.000 bpj. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, dengan dua kontrol: natrium diklofenak pada variasi konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; 100; dan 1.000 bpj sebagai kontrol positif, serta akuades sebagai kontrol negatif.

B. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini meliputi deskripsi sebagai berikut:

Tabel 3. 1 Kode Sampel Penelitian

Kode Skripsi	Spesies	Asal Nektar	Asal Daerah
AD1	*Apis dorsata*	Akasia	Riau
AD2	*Apis dorsata*	Multiflora	Maluku Utara
AD3	*Apis dorsata*	Multiflora	Jawa Barat
AD4	*Apis dorsata*	Multiflora	Nusa Tenggara Timur

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biosprospeksi Hewan, Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2024 – Juni 2025.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas ukur (Duran), labu ukur (Duran), corong pisah (Pyrex), shaker (HB-500 MiniDizer), gelas beaker (Duran), tabung reaksi (Duran), erlenmayer (Pyrex), cawan petri (Iwaki), *rotary evaporator* (Dlab), neraca analitik (Shimazu), autoklaf (Hiramaya), *Laminar Air Flow* (LabMart), Spektrofotometer UV (Thermo Scientific), *vortex* (Corning LSE), *hot plate* (Thermo

Scientific), mikropipet 20-200µL, 200-1000µL, 20-200µL (Thermo Scientific), kaliper digital (Tricle Brand), pinset, inkubator (Memmert), *centrifuge* (Eppendorf), waterbath (Memmert), pH meter (Benchtop), pipet tetes, oven, spatula, *magnetic stirrer*, mortar dan stamper, lembaran kaca transparan, jarum ose, bunsen, kertas coklat, korek, plastik tahan panas, dan karet gelang.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian penelitian ini meliputi sampel madu lebah hutan (*A. dorsata*) dengan kode sampel AD1 (Riau), AD2 (Maluku Utara), AD3 (Jawa Barat), AD4 (Nusa Tenggara Timur), bakteri uji *P. acnes* (ATCC-6919), bakteri *S. aureus* (InaCC-B4), *P. aeruginosa* (InaCC B3), n*utrient broth* (NB), *agar powder*, n-heksana, etil asetat, air, tris base, *bovine serum albumin* (BSA), natrium diklofenak 50 mg, karbopol, alginat, propilena glikol, asam sorbat, asam benzoat, akuades, tip mikropipet, botol serum, botol vial, kapas, etanol 70%, kertas cakram, kertas aluminium foil, dan tisu.

E. Metode

1. Ekstraksi Senyawa Aktif: fraksinasi cair-cair pelarut bertingkat: air, n-heksana, dan etil asetat

a. Ekstraksi-Fraksinasi

Metode ekstraksi menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan perbedaan polaritas pelarut secara bertingkat menggunakan 3 jenis pelarut yaitu air, n-heksana, dan etil asetat. Sebanyak 25 mL madu dilarutkan dalam 100 mL air, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Larutan madu tersebut ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan volume 1:1, dikocok kuat, lalu didiamkan semalaman hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas yang merupakan ekstrak fraksi n-heksana diambil dan diberi label sebagai ekstrak fraksi n-heksana. Ekstrak fraksi air (lapisan bawah) kemudian difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat dengan rasio volume 1:1. Setelah dikocok dan didiamkan hingga terpisah, lapisan atas diambil dan diberi label sebagai ekstrak fraksi etil asetat, sedangkan sisa lapisan air diberi label sebagai ekstrak fraksi air (Handayani *et al.,* 2022).

Ketiga ekstrak fraksi hasil pemisahan kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak fraksi bebas pelarut. Setelah diperoleh ekstrak fraksi bebas pelarut, dilakukan

perhitungan rendemen untuk masing-masing ekstrak fraksi menggunakan rumus:

$$\%\ Rendemen = \frac{Bobot\ Ekstrak\ Fraksi\ (g)}{Volume\ Ekstrak\ Awal\ (mL)} x100\%$$

(Nuari *et al*., 2017)

Keterangan: % Rendemen: $(\%\frac{b}{v})$

b. Pembuatan Larutan Konsentasi Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak fraksi madu lebah hutan dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi sebesar 10.000 bpj, 50.000 bpj, dan 100.000 bpj. Sebanyak 5 gram ekstrak fraksi madu ditimbang kemudian dilarutkan dalam 5 mL akuades steril, selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat kebawah (*serial dilution*) hingga mencapai konsentrasi 10.000 bpj. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol 100 bpj sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades steril (Hardiana & Wulandari, 2019).

2. Pengujian Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi dilakukan untuk memastikan peralatan bebas dari kontaminasi mikroorganisme. Alat gelas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk membunuh endospora bakteri. Alat karet disterilkan dengan perendaman dalam etanol 70%. Jarum ose disterilkan dengan pemanasan langsung pada api bunsen hingga ujung ose berwarna kemerahan. Cawan petri dibungkus menggunakan kertas cokelat dan dilapisi plastik tahan panas, kemudian disterilisasi dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 2 jam. *Laminar air flow* disterilkan dengan penyinaran UV selama 15 menit, kemudian disemprot dengan etanol 70% sebelum dan sesudah penggunaan untuk mencegah kontaminasi (Mahoon, 2015).

b. Pembuatan Media *Nutrient Agar*

Prosedur pembuatan media NA mengikuti protokol pabrikan (HiMedia, 2018). Sebanyak 1,3 gram NB dan 1,5 gram *agar powder* dilarutkan dalam 100 mL akuades. Proses pelarutan dilakukan di dalam labu erlenmeyer dengan bantuan *hot plate* untuk memastikan seluruh partikel media terdispersi secara merata. Kemudian, labu erlenmeyer ditutup rapat menggunakan sumbat kapas yang

dilapisi kertas aluminium foil guna mencegah kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Selanjutnya, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media cair dituangkan ke dalam cawan petri steril dalam kondisi aseptis. Cawan petri kemudian dibiarkan pada suhu ruang hingga media menjendal dan siap digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Asthana *et al*., 2014).

c. Inokulasi Bakteri

Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara menggoreskan satu ose berisi kultur murni bakteri uji secara aseptis pada permukaan media NA. Cawan petri kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, cawan petri diletakkan dalam posisi terbalik untuk menghindari terjadinya kontaminasi akibat kondensasi uap air pada cawan petri (Mahoon, 2015).

d. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji pada Media Cair NB

Prosedur pembuatan media NB mengikuti protokol pabrikan (HiMedia, 2018). Sebanyak 0,75 gram media NB dilarutkan dalam 50 mL akuades, kemudian ditutup dengan sumbat kapas dan dilapisi kertas aluminium foil, lalu disterilisasi. Setelah proses sterilisasi dan media mencapai suhu ruang, bakteri yang telah diremajakan digunakan untuk proses inokulasi ke dalam media NB 50%. Satu ose

kultur bakteri masing-masing diinokulasikan ke dalam 50 mL media NB, kemudian dihomogenkan menggunakan *shaker* selama 24 jam (Elfitra & Saskiawan, 2020).

f. Pembuatan Media NA 50%

Prosedur pembuatan media NA mengikuti protokol pabrikan (HiMedia, 2018). Sebanyak 1,3 gram NB dan 0,75 gram *agar powder* dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian ditutup dengan sumbat kapas dan dilapisi kertas aluminium foil, lalu disterilisasi. Setelah proses sterilisasi dan media mencapai suhu ruang, suspensi bakteri yang telah tumbuh sebelumnya digunakan untuk inokulasi ke dalam media NA 50%. Masing-masing sebanyak 500 µL suspensi bakteri uji ditambahkan ke dalam 100 mL media NA 50%, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, sebanyak ±5 mL media NA 50% yang telah tersuspensi bakteri dituangkan ke atas permukaan media agar steril (Elfitra & Saskiawan, 2020).

g. Pengujian Difusi Cakram

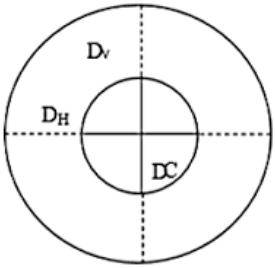
Sebanyak 20 µL sampel uji dengan berbagai konsentrasi diteteskan pada masing-masing kertas cakram yang telah diletakkan dalam cawan petri kosong yang steril. Sebagai pembanding, akuades steril digunakan sebagai kontrol negatif, dan kloramfenikol 100 bpj sebagai kontrol positif. Kertas cakram kemudian dipindahkan secara aseptis ke

permukaan media yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri uji menggunakan pinset steril. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan kaliper digital berdasarkan diagram pengukuran zona hambat (Gambar 3.1) sesuai metode Anita *et al.* (2019). Aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji (Kipimbob *et al*., 2019).

Perhitungan diameter zona hambat menggunakan rumus:

$$Rumus = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

(Winastri *et al*., 2020)



Keterangan:
Dv = Diameter vertikal
Dc = Diameter cakram
Dh = Diameter horizontal

Gambar 3. 1 Diagram Pengukuran Zona Hambat (Anita *et al*., 2019)

3. Uji Antiinflamasi Berdasarkan Uji Inhibisi Denaturasi Protein

a. Pembuatan Larutan TBS

Sebanyak 50 mL Tris base dilarutkan dalam 100 mL akuades. Kemudian, pH larutan diukur dan disesuaikan hingga mencapai pH 5,6 dengan penambahan asam asetat glasial. Setelah pH stabil, larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL dan volumenya ditepatkan hingga tanda batas dengan akuades (Sari *et al.,* 2025).

b. Pembuatan Larutan BSA 0,2%

Sebanyak 0,2 gram BSA ditimbang menggunakan neraca analitik. Serbuk BSA kemudian dilarutkan dalam larutan TBS. Volume larutan disesuaikan hingga mencapai 100 mL (Farida *et al.,* 2018).

c. Pembuatan Kontrol Positif Natrium Diklofenak dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan dalam uji antiinflamasi yaitu natrium diklofenak 50 mg dan kontrol negatif yang digunakan yaitu akuades. Sebanyak 50 mg natrium diklofenak dilarutkan dalam 10 mL akuades untuk menghasilkan larutan induk dengan konsentrasi 5.000 bpj. Kemudian, sebanyak 2 mL larutan induk diambil dan diencerkan dengan 8 mL akuades, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1.000 bpj. Selanjutnya

dilakukan pengenceran bertingkat kebawah (*serial dilution*) untuk seri konsentrasi sebesar (6,25; 12,5; 25; 50; 100; dan 1000) bpj (Rusli & Setawan, 2020).

d. Pembuatan Larutan Konsentasi Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Sebanyak 0,1 gram masing-masing ekstrak fraksi madu dilarutkan dalam 10 mL akuades untuk memperoleh larutan induk 10.000 bpj. Selanjutnya, sebanyak 0,2 mL larutan induk diambil dan ditambahkan 1,8 mL akuades. Pengenceran tersebut menghasilkan larutan dengan konsentrasi akhir sebesar 1000 bpj (Fasse & Gottschalk, 2023).

e. Pengujian Antiinflamasi

Sebanyak 50 µL sampel uji, kontrol positif, dan kontrol negatif masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, larutan BSA 0,2% ditambahkan hingga volume akhir mencapai 5 mL. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, lalu dipanaskan dalam waterbath selama 5 menit pada suhu 72°C. Setelah itu, larutan dibiarkan mencapai suhu ruang selama 25 menit. Ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm (Bhutia *et al*., 2020).

Hitung persentase penghambatan denaturasi protein menggunakan rumus:

$$\%\ inhibisi = \frac{(Abs.Kontrol\ Negatif - Abs.Larutan\ Uji)}{Abs.Kontrol\ Negatif} x100\%$$

(Fitriana *et al*., 2024)

4. Formulasi Serum

Formulasi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan modifikasi dari formulasi yang telah dipublikasikan oleh Hasrawati *et al*. (2020), seperti pada Tabel 3.2.

Tabel 3. 2 Formulasi Modifikasi Serum Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Bahan	Komposisi (%b/v)		Satuan
	Formulasi Uji (F)	Plasebo (P)	
Ekstrak Fraksi	1	-	Gram
Karbopol	0,03	0,03	Gram
Alginat	0,05	0,05	Gram
Propilena glikol	1,5	1,5	mL
Asam sorbat	0,005	0,005	Gram
Asam benzoat	0,005	0,005	Gram
Akuades	10	10	mL

(Hasrawati *et al*., 2020)
Keterangan: % b/v = % bobot/volume
F = formulasi ekstrak fraksi
P = formulasi tanpa ekstrak fraksi

Karbopol dan alginat sebagai agen pengental dihidrasi menggunakan akuades panas hingga mengembang (campuran kode W1). Pada wadah terpisah, ekstrak fraksi madu dicampurkan dengan propilena glikol hingga homogen (campuran kode W2). Selanjutnya, senyawa pengawet berupa asam sorbat dan asam benzoat dicampurkan ke campuran W1, kemudian digerus hingga merata. Campuran W1 dan W2 kemudian diaduk hingga homogen. Tambahkan akuades sedikit demi sedikit hingga diperoleh konsistensi serum yang sesuai dengan formulasi (Handayani *et al*., 2022).

5. Uji Sediaan Serum

a. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengaplikasikan sampel serum pada permukaan selembar kaca atau bahan transparan lain yang sesuai untuk analisis. Pada tahap pengujian ini, sediaan serum harus menunjukkan konsistensi yang merata dan seragam, tanpa adanya tampak butiran kasar atau partikel lain yang dapat mengganggu hasil pengamatan. Penilaian dilakukan secara visual untuk memastikan bahwa tidak terdapat ketidakseragaman dalam sampel (Hasrawati *et al*., 2020).

b. Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 g sampel ditempatkan pada permukaan kaca dan dibiarkan menyebar secara spontan. Setelah itu, cawan petri dengan diameter 10-15 cm diletakkan secara vertikal di atas sampel dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter maksimum sampel kemudian diukur untuk mendapatkan nilai kemampuan daya sebar serum. Rentang daya sebar yang optimal umumnya berkisar antara 5 hingga 7 cm (Hasrawati *et al*., 2020).

c. Uji pH

Stik pH atau kertas pH dicelupkan ke dalam sediaan serum selama 1 menit. Kemudian selama proses pencelupan, diamati perubahan warna yang terjadi pada stik atau kertas pH. Perubahan warna tersebut digunakan untuk menentukan nilai pH sediaan, yang berada dalam rentang antara 4,5 hingga 7 (Tan & Lio, 2025).

d. Uji Efikasi (Uji Lanjutan)

Uji efikasi adalah metode lanjutan yang bertujuan untuk menguji efektivitas serum *anti-acne* setelah sediaan formulasi serum selesai dibuat. Pengujian dilakukan secara *in vitro* menggunakan parameter kuantitatif untuk menilai aktivitas antibakteri dan antiinflamasi dari sediaan serum. Metode ini dilakukan menggunakan difusi cakram dan uji inhibisi denaturasi protein (Tilarso, 2022).

Pada pengujian aktivitas *anti-acne*, suspensi bakteri uji masing-masing dituangkan secara merata ke dalam media NA steril. Kertas cakram yang telah diberi masing-masing sebanyak 20 µL sampel sediaan serum ekstrak fraksi terbaik (berdasarkan hasil uji antibakteri dan antiinflamasi sebelumnya) diletakkan di atas permukaan media yang telah diinokulasi. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 100 bpj, sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Selain itu, plasebo berupa serum tanpa ekstrak fraksi juga digunakan sebagai pembanding. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dan dianalisis secara statistik untuk mengevaluasi efektivitas dan stabilitas aktivitas antibakteri dari sediaan serum (Anita *et al,.* 2019).

Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode inhibisi denaturasi protein menggunakan indikator BSA. Sebanyak 50 µL sampel serum ekstrak fraksi terbaik, kontrol positif, kontrol negatif, dan plasebo ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, larutan BSA 0,2% ditambahkan hingga volume akhir mencapai 5 mL. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, lalu dipanaskan dalam waterbath pada suhu 72°C selama 5 menit, dan didinginkan kembali pada suhu ruang selama 25

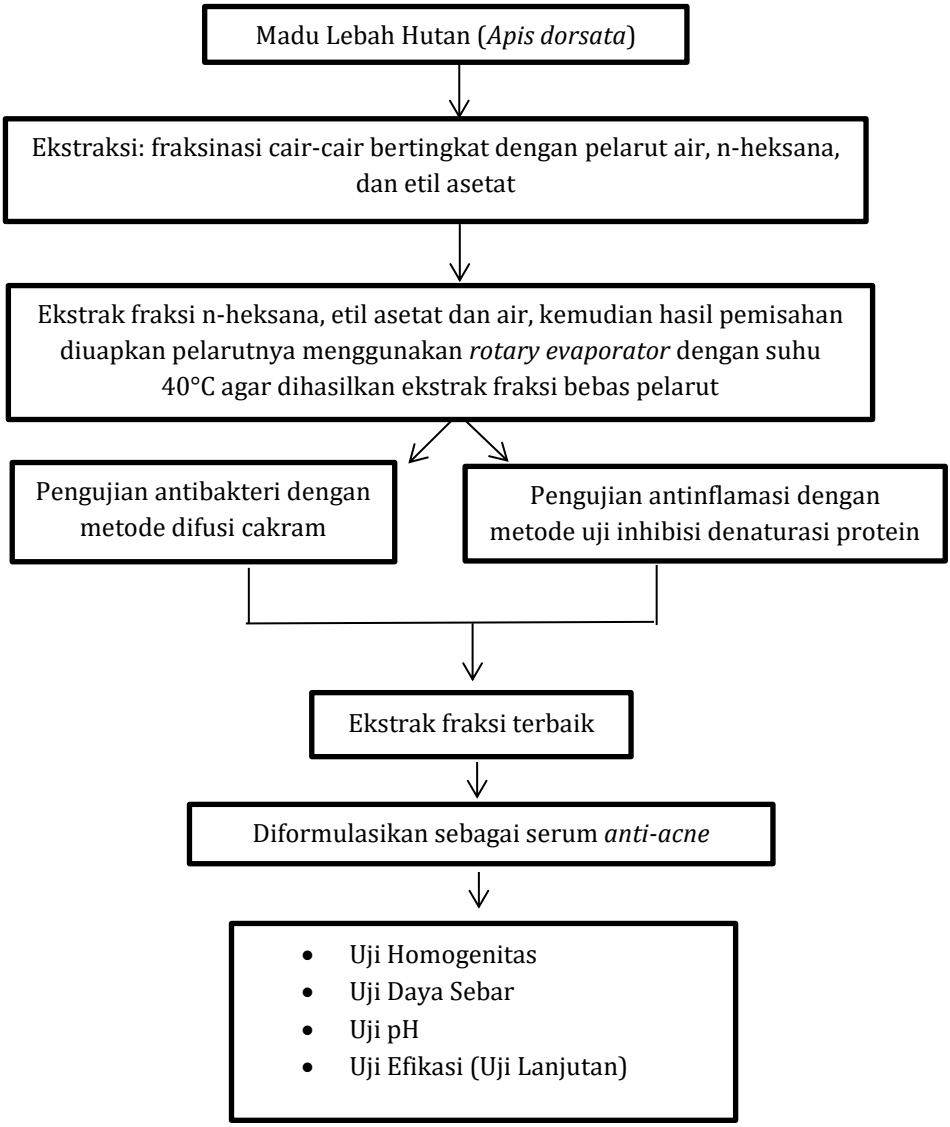
menit. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm. Kontrol positif menggunakan natrium diklofenak pada beberapa variasi konsentrasi, akuades digunakan sebagai kontrol negatif, dan plasebo berupa serum tanpa ekstrak fraksi digunakan sebagai pembanding. Persentase inhibisi dihitung untuk menilai efektivitas antiinflamasi serum, dan hasilnya dianalisis secara statistik (Bhutia *et al*., 2020).

F. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) melalui *software* SPSS versi 26 dengan taraf signifikansi 95% ($p<0,05$). Sebelum melakukan uji ANOVA, dilakukan pemeriksaan terhadap asumsi uji normalitas dan uji homogenitas data untuk memastikan bahwa hasil analisis yang diperoleh valid dan reliabel. Apabila didapatkan data berdistribusi normal dan homogen dengan nilai sig >0,05, maka ANOVA dapat digunakan untuk menguji apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata kelompok perlakuan. Namun, apabila data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen dengan nilai sig <0,05, maka uji non-parametrik Kruskal-Wallis akan digunakan sebagai alternatif. Selanjutnya, dilakukan uji *post-hoc* Tukey untuk

menentukan perlakuan yang paling efektif dari berbagai perlakuan yang diberikan (Sun *et al*., 2019).

G. Alur Penelitian



Gambar 3. 2 Alur Penelitian

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Sampel Penelitian

Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antibakteri dan antiinflamasi menggunakan empat sampel madu lebah hutan (*A. dorsata*) dari empat daerah yang berbeda di Indonesia yaitu AD1 (Riau), AD2 (Maluku utara), AD3 (Jawa Barat) dan AD4 (Nusa Tenggara Timur). Analisis ini bertujuan untuk mengevaluasi dan membandingkan sifat biologis madu *A. dorsata* dari berbagai daerah di Indonesia, sehingga perbedaan potensi senyawa bioaktif dapat diidentifikasi serta dikaitkan dengan kondisi lingkungan dan komposisi flora dominan pada masing-masing lokasi pengambilan sampel (Jaya *et al*., 2024). Menurut Al-Kafaween *et al*. (2023), perbedaan lokasi pengambilan sampel didasarkan pada pertimbangan komposisi kimia madu yang sangat dipengaruhi oleh jenis flora dominan di sekitarnya, sehingga dapat memberikan perbedaan kandungan senyawa bioaktif antar sampel madu.

Suleman *et al*. (2020) juga memperkuat bahwa variasi geografis dan botani dapat menyebabkan perbedaan signifikan dalam kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, dan asam organik yang berperan dalam aktivitas farmakologis madu. Hal ini menunjukkan bahwa karakteristik madu sebagai bahan alam tidak bersifat homogen, melainkan sangat

bergantung pada kondisi lingkungan tempat lebah mengumpulkan nektar, sehingga seleksi sumber madu menjadi langkah krusial dalam pengembangan sediaan terapeutik yang efektif. Pada penelitian ini, penggunaan madu *A. dorsata* dari lokasi tertentu memberikan dasar pertimbangan dalam menilai potensi aktivitas biologisnya. Menurut Farooq & Ngaini (2023), perbedaan lingkungan tumbuh dapat memengaruhi kandungan metabolit sekunder, sehingga secara tidak langsung menentukan tingkat efektivitas madu dalam aktivitas antibakteri maupun antiinflamasi.

Penggunaan spesies *A. dorsata* didasarkan pada temuan sebelumnya yang menunjukkan bahwa madu dari genus *Apis* umumnya mengandung flavonoid dan senyawa fenolik dalam jumlah yang signifikan (Hasan *et al*., 2023). Kandungan senyawa bioaktif ini diketahui memiliki potensi sebagai agen farmakologis yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi terapeutik (Safitri *et al*., 2022). Selain itu pada penelitian ini, fraksinasi bertingkat diterapkan karena efektif dalam memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya, sehingga dapat meningkatkan efektivitas biologisnya (Silva *et al*., 2021).

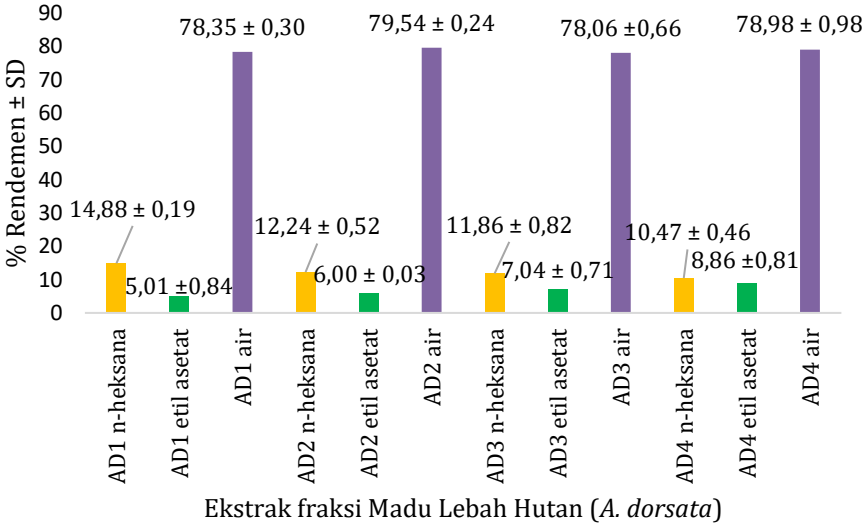
Proses fraksinasi terhadap masing-masing sampel dilakukan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*) dengan pelarut n-heksana (non-polar), etil

asetat (semi-polar), dan air (polar). Menurut Birinci *et al*. (2025), pemilahan senyawa berdasarkan polaritas dapat mengidentifikasi ekstrak fraksi yang paling aktif, terutama dalam mengekstraksi komponen seperti fenolik dan flavonoid. Hal ini diperkuat oleh Kumari *et al*. (2024), penggunaan pelarut berdasarkan polaritas berpengaruh besar terhadap jenis dan jumlah senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi, hal ini dapat digunakan sebagai indikasi untuk menentukan kekuatan aktivitas antibakterinya.

Ekstrak fraksi yang dihasilkan kemudian diuji aktivitas antibakteri terhadap tiga spesies bakteri yang berperan dalam patogenesis jerawat dan kulit, yaitu *P. acnes*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* (Legiawati *et al*., 2023). Pengujian dilakukan dalam tiga konsentrasi berbeda (100.000 bpj, 50.000 bpj, dan 10.000 bpj) untuk mengamati pengaruh dosis terhadap efektivitas antibakteri masing-masing ekstrak fraksi (Wadi *et al*., 2022). Ekstrak fraksi juga diuji aktivitas antiinflamasi menggunakan metode inhibisi denaturasi protein untuk mengetahui efektivitas dalam mencegah perubahan struktur protein sebagai indikator respons inflamasi. Pengujian ini memberikan gambaran awal mengenai potensi ekstrak fraksi madu *A. dorsata* sebagai kandidat bahan aktif dalam formulasi topikal untuk pengobatan jerawat (Derbel *et al*., 2023).

B. Rendemen Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Tahap awal sebelum pengujian aktivitas antibakteri dan antiinflamasi adalah penentuan nilai rendemen masing-masing ekstrak fraksi yang diperoleh melalui proses fraksinasi. Penentuan rendemen dilakukan untuk mengukur efisiensi pemisahan senyawa aktif dari suatu sampel dengan membandingkan berat ekstrak fraksi kering terhadap berat awal sampel (Senduk *et al*., 2022). Hasil rendemen ekstrak fraksi madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Persentase Rendemen Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Madu lebah hutan (*A. dorsata*) merupakan bahan alam kompleks yang tersusun atas berbagai senyawa kimia, seperti gula, asam amino, protein, vitamin, dan senyawa fenolik seperti flavonoid (Sultana *et al*., 2024). Namun, komposisi madu yang kompleks memerlukan proses pemisahan berdasarkan karakteristik kimianya (Li *et al*., 2022). Pada penelitian ini, dilakukan proses ekstraksi cair-cair secara bertahap dengan sistem pelarut ekstrem, yaitu pemisahan pelarut tidak berdasarkan urutan polaritas rendah hingga tinggi (Kuś *et al*., 2021).

Fraksinasi dimulai dari pelarut polar (air), kemudian ditambahkan pelarut non-polar (n-heksana), dan dilanjutkan dengan pelarut semi-polar (etil asetat). Penambahan pelarut secara bertahap ini bertujuan untuk meminimalkan kerusakan senyawa bioaktif dan memastikan ekstraksi yang lebih selektif sesuai dengan tingkat kepolaran masing-masing senyawa (Pedisić *et al*., 2023). Menurut Kuś *et al*. (2021), hal ini disebabkan oleh sifat madu yang memiliki kandungan air tinggi serta didominasi oleh senyawa polar seperti gula, sehingga penambahan pelarut non-polar secara langsung tanpa pelarutan dalam air dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan pembentukan gel.

Berdasarkan Gambar 4.1, hasil rendemen tertinggi secara konsisten diperoleh pada ekstrak fraksi air untuk

keempat sampel, yaitu 79,54 ± 0,24% (AD2), 78,98 ± 0,98% (AD4), 78,35 ± 0,30% (AD1), dan 78,06 ± 0,66% (AD3). Ekstrak fraksi n-heksana menunjukkan nilai rendemen menengah, yaitu 14,88 ± 0,19% (AD1), 12,24 ± 0,52 (AD2), 11,86 ± 0,82% (AD3), dan 10,47 ± 0,46% (A4). Ekstrak fraksi etil asetat menunjukkan nilai rendemen terendah dibandingkan dua fraksi lainnya, yaitu 8,86 ± 0,81% (AD4), 7,04 ± 0,71% (AD3), 6,00 ± 0,03% (AD2), dan 5,01 ± 0,84% (AD1).

Tabel 4. 1 Rata-rata Rendemen Ekstrak Fraksi n-heksana, etil asetat dan air Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Ekstrak Fraksi	% Rendemen ±SD
n-heksana	12,31 ± 1,77^{b}
etil asetat	6,72 ±1,59^{a}
air	78,73 ±0,80^{c}

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji *one way* ANOVA dilanjutkan uji *post hoc* Tukey HSD.

Analisis statistik terhadap data rendemen menggunakan uji *one way* ANOVA Lampiran 1 mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan terhadap rendemen ekstrak fraksi madu *A. dorsata* ($p < 0,05$). Uji *post hoc* Tukey HSD juga menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat berbeda nyata secara statistik dengan ekstrak fraksi n-heksana dan ekstrak

fraksi air. Ekstrak fraksi n-heksana juga berbeda nyata dengan ekstrak fraksi air, sebagaimana ditunjukkan oleh perbedaan notasi huruf ($a \neq b \neq c$). Tabel 4. 1 memperlihatkan hasil ekstrak fraksi air memiliki rata-rata nilai rendemen tertinggi, yaitu sebesar 78,73 ± 0,80%, diikuti oleh ekstrak fraksi n-heksana dengan rata-rata rendemen sebesar 12,31 ± 1,77%, dan ekstrak fraksi etil asetat yang menghasilkan rendemen paling rendah yaitu sebesar 6,72 ± 1,59%.

Nilai rendemen tinggi yang dihasilkan ekstrak fraksi air mengindikasikan bahwa sebagian besar senyawa dalam madu bersifat polar. Senyawa seperti gula sederhana (glukosa dan fruktosa), asam amino, asam organik, serta senyawa fenolik tertentu yang bersifat polar cenderung memiliki kemampuan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi dipol sesuai dengan prinsip "*like dissolves like*" (Rakhmat *et al*., 2020). Sebaliknya, nilai rendemen ekstrak fraksi n-heksana dan etil asetat yang cenderung lebih rendah mengindikasikan bahwa senyawa non-polar dan semi-polar hanya mampu menarik sebagian kecil senyawa dari total kandungan kimia dalam madu (Wijayanti *et al*., 2022).

Hasil ini sejalan dengan penelitian Sicak *et al.* (2021), yang menyatakan bahwa karakteristik kimiawi madu *A. dorsata* didominasi oleh senyawa-senyawa polar, terutama gula reduksi seperti glukosa dan fruktosa, asam-asam organik,

serta beberapa senyawa fenolik yang bersifat hidrofilik. Menurut Fajar *et al*. (2022) rendemen tinggi yang diperoleh ekstrak fraksi air mengindikasikan bahwa sebagian besar komponen bioaktif dalam madu *A. dorsata* memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut polar. Sebaliknya, ekstrak fraksi n-heksana dan etil asetat menunjukkan rendemen yang lebih rendah, menandakan bahwa senyawa non-polar maupun semi-polar seperti lipid, senyawa volatil, serta flavonoid hanya terdapat dalam jumlah minor dan tidak menjadi komponen utama dalam profil kimia madu.

Kamarul *et al*. (2020) melaporkan bahwa persentase rendemen sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan serta kelarutan senyawa bioaktif dalam bahan, sehingga hasil penelitian menunjukkan adanya variasi antar pelarut. Sementara itu, Arhafna *et al*. (2023) menyatakan bahwa secara umum rendemen dapat dikategorikan baik apabila nilainya melebihi 10%. Namun, pada penelitian ini rendemen yang rendah pada ekstrak fraksi etil asetat tidak dapat diartikan sebagai kualitas yang tidak baik, karena senyawa bioaktif spesifik yang larut dalam pelarut semi-polar, seperti flavonoid dan fenol diduga mampu memberikan efek antibakteri dan antiinflamasi yang signifikan.

Ekstrak fraksi n-heksana dengan rendemen sedang mengandung senyawa non-polar yang berpotensi mendukung

aktivitas tertentu, sedangkan ekstrak fraksi air dengan rendemen tinggi melarutkan banyak senyawa polar, seperti gula dan asam amino, namun tidak semua senyawa tersebut bersifat bioaktif terhadap target penelitian. Oleh karena itu, menurut Hasnaeni & Wisdawati (2019), penilaian baik atau tidaknya rendemen harus mempertimbangkan keseimbangan antara kuantitas ekstrak dan kandungan senyawa bioaktif yang menentukan efektivitas biologis ekstrak tersebut.

Penggunaan urutan fraksinasi dengan polaritas ekstrem juga memberikan keuntungan dalam pemisahan dan identifikasi karakteristik senyawa berdasarkan afinitasnya terhadap pelarut, sehingga tiap ekstrak fraksi mengandung komponen dengan sifat kimia yang lebih spesifik (Alamsyah *et al.,* 2024). Setelah senyawa polar terekstraksi terlebih dahulu oleh pelarut air, pelarut n-heksana berperan dalam mengekstraksi senyawa non-polar seperti asam lemak, komponen volatil, serta senyawa lipofilik lainnya (Ferdian *et al.,* 2025). Adapun pelarut etil asetat yang digunakan pada tahap akhir fraksinasi berfungsi untuk menarik senyawa semi-polar yang umumnya memiliki potensi aktivitas biologis tinggi, seperti flavonoid, senyawa fenolik semi-polar dan beberapa jenis asam organik (Prestianti *et al.*, 2018).

C. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Ekstrak fraksi yang diperoleh dari hasil fraksinasi selanjutnya digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri untuk menilai kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat (Reynolds & Kollef, 2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak fraksi madu *A. dorsata* dilakukan dengan metode difusi cakram modifikasi dari penelitian Elfitra & Saskiawan (2020). Penggunaan metode ini dinilai efektif karena mampu memberikan gambaran visual terhadap tingkat hambatan pertumbuhan bakteri melalui pembentukan zona hambat di sekitar kertas cakram. Metode ini banyak digunakan dalam pengujian antimikrob karena relatif sederhana, efisien, dan memungkinkan untuk perbandingan langsung antara perlakuan ekstrak fraksi madu lebah hutan dengan kontrol positif dan kontrol negatif (Priya *et al*., 2023).

Pengujian antibakteri pada penelitian ini dilakukan menggunakan tiga spesies bakteri, yaitu *P. acnes, S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol 100 bpj sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades steril. Hasil pengujian antibakteri ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*) ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Konsentrasi (bpj)	Sampel	Ekstrak Fraksi	Diameter Zona Hambat (mm) ± SD		
			P. acnes	*S. aureus*	*P. aeruginosa*
100.000	AD1	n-heksana	2,18±0,015^{c}	2,52±0,036^{d}	*n.d*
50.000			1,25±0,041^{b}	1,27±0,025^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		etil asetat	2,35±0,047^{d}	2,79±0,015^{e}	*n.d*
50.000			1,34±0,045^{b}	1,63±0,045^{c}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		air	2,11±0,020^{c}	2,36±0,041^{d}	*n.d*
50.000			1,13±0,030^{b}	1,18±0,020^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000	AD2	n-heksana	2,23±0,032^{d}	2,78±0,025^{e}	*n.d*
50.000			1,40±0,025^{b}	1,62±0,032^{c}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*

Tabel 4.2 Lanjutan Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

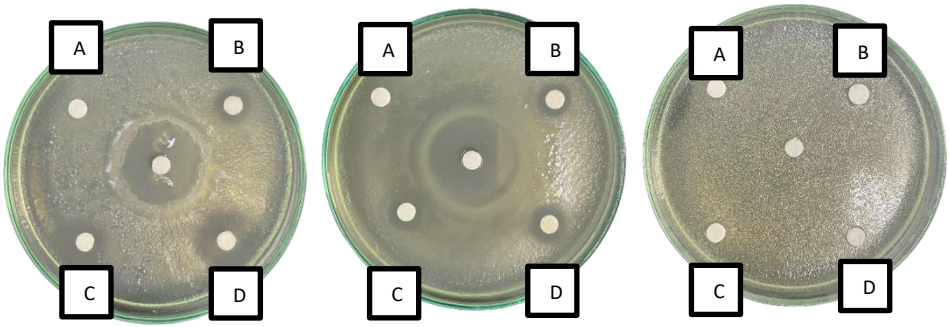
Konsentrasi (bpj)	Sampel	Ekstrak Fraksi	Diameter Zona Hambat (mm) ± SD		
			P. acnes	*S. aureus*	*P. aeruginosa*
100.000	AD2	etil asetat	2,87±0,045^{d}	3,12±0,020^{e}	*n.d*
50.000			1,52±0,015^{b}	1,80±0,030^{c}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		air	2,22±0,025^{d}	2,59±0,025^{e}	*n.d*
50.000			1,23±0,040^{b}	1,51±0,030^{c}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000	AD3	n-heksana	4,19±0,026^{e}	2,95±0,040^{d}	*n.d*
50.000			1,97±0,020^{c}	1,31±0,030^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		etil asetat	5,33±0,025^{e}	3,28±0,025^{d}	*n.d*
50.000			2,19±0,025^{c}	2,09±0,025^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		air	3,66±0,040^{e}	2,89±0,030^{d}	*n.d*
50.000			1,56±0,049^{c}	1,27±0,030^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*

Tabel 4.2 Lanjutan Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Konsentrasi (bpj)	Sampel	Ekstrak Fraksi	Diameter Zona Hambat (mm) ± SD		
			P. acnes	*S. aureus*	*P. aeruginosa*
100.000	AD4	n-heksana	7,88±0,036^{e}	3,32±0,045^{d}	*n.d*
50.000			2,71±0,015^{c}	1,58±0,020^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		etil asetat	12,34±0,025^{e}	4,11±0,025^{d}	*n.d*
50.000			3,12±0,030^{c}	2,31±0,036^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
100.000		air	5,76±0,025^{e}	3,04±0,030^{d}	*n.d*
50.000			2,05±0,040^{c}	1,46±0,040^{b}	*n.d*
10.000			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*
Kloramfenikol 100 bpj (K+)			22,46±0,025^{f}	22,46±0,025^{f}	*n.d*
Akuades Steril (K-)			*n.d.*^{a}	*n.d.*^{a}	*n.d*

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik ($p<0,05$) berdasarkan uji *one way* ANOVA dilanjutkan uji *post hoc* Tukey HSD. *n.d.* (*not detected*) = zona hambat tidak terdeteksi.

Berdasarkan hasil uji *one way* ANOVA Lampiran 2, terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap ketiga bakteri uji ($p < 0,05$). Uji *post hoc* Tukey HSD menunjukkan bahwa ekstrak fraksi madu *A. dorsata* memberikan zona hambat terbesar terhadap *P. acnes*. Berdasarkan Tabel 4.2, aktivitas antibakteri ekstrak fraksi madu *A. dorsata* terhadap *P. acnes* berkisar dari kategori lemah hingga kuat, sedangkan terhadap *S. aureus* tergolong lemah namun signifikan. Sebaliknya, tidak ditemukan zona hambat (*n.d.*) terhadap *P. aeruginosa*, yang mengindikasikan bahwa ekstrak fraksi madu tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut pada kondisi uji ini.



(a) (b) (c)

Gambar 4. 2 Pengujian Antibakteri pada *P. acnes* (a), *S. aureus* (b), *P. aeruginosa* (c). A: kontrol negatif, B: ekstrak fraksi air, C: ekstrak fraksi n-heksana, D: ekstrak fraksi etil asetat, tanpa keterangan: kontrol positif (Dokumentasi penelitian, 2025).

Aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak fraksi etil asetat sampel AD4 (Nusa Tenggara Timur) pada konsentrasi 100.000 bpj, dengan diameter zona hambat sebesar 12,34 ± 0,025 mm terhadap *P. acnes* terlihat pada Gambar 4.2 (a) termasuk kategori kuat dan 4,11 ± 0,025 mm terhadap *S. aureus* terlihat pada Gambar 4.2 (b) termasuk kategori lemah signifikan. Sementara itu, ekstrak fraksi n-heksana dan air juga menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, meskipun zona hambat yang terbentuk relatif lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak fraksi etil asetat dan kontrol positif (kloramfenikol 100 bpj) yang mampu menghasilkan zona hambat sebesar 22,46 ± 0,025 mm.

Secara konsisten, ekstrak fraksi etil asetat AD4 yang berasal dari madu multiflora *A. dorsata* asal Nusa Tenggara Timur menunjukkan efektivitas antibakteri paling tinggi terhadap kedua bakteri uji Gram positif. Meskipun nilai zona hambatnya masih lebih rendah dari kontrol positif (Kloramfenikol 100 bpj), hasil ini tetap menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak fraksi etil asetat AD4 memiliki potensi sebagai sumber senyawa antibakteri alami yang layak untuk dikembangkan lebih lanjut.

Madu khas provinsi Nusa Tenggara Timur menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan madu yang berasal dari wilayah lain seperti Riau, Jawa Barat, dan Maluku Utara. Hal ini diduga berkaitan erat dengan karakteristik geografis dan ekologis provinsi Nusa Tenggara Timur yang unik. Sebagian besar flora penghasil nektar di wilayah tersebut terdiri atas tanaman endemik yang tumbuh secara alami pada lingkungan dengan iklim kering dan tingkat stres abiotik yang tinggi (Mohagheghian *et al*., 2025). Kondisi ini merangsang tanaman untuk meningkatkan sintesis metabolit sekunder, seperti flavonoid dan senyawa fenolik dalam konsentrasi yang lebih tinggi (Ahmed *et al*., 2021). Senyawa-senyawa tersebut terakumulasi dalam nektar dan selanjutnya diolah oleh lebah menjadi madu yang kaya akan komponen bioaktif (Farooq & Ngaini, 2023). Flavonoid dan senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas farmakologis yang luas, termasuk sebagai agen antibakteri dan antiinflamasi (Tan *et al*., 2022).

Aktivitas antibakteri yang signifikan pada ekstrak fraksi etil asetat madu *A. dorsata* berasal dari kandungan senyawa metabolit sekunder, khususnya flavonoid yang berhasil ditarik oleh pelarut semi-polar (Hasan *et al*., 2023). *P. acnes* dan *S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif yang menunjukkan sensitivitas berbeda terhadap flavonoid dalam ekstrak fraksi madu (Li *et al*., 2025). *P. acnes* memiliki dinding sel yang lebih

sederhana dan tidak memiliki sistem pertahanan kompleks, sehingga lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri (Djakaria *et al*., 2020). Sebaliknya, *S. aureus* memiliki pertahanan kompleks seperti lapisan biofilm, asam teikoat, dan enzim β-laktamase sehingga meningkatkan resistensinya terhadap senyawa antibakteri (Aljaghwani *et al*., 2021). Flavonoid bekerja dengan menghambat pertumbuhan dan replikasi bakteri patogen dengan cara memutus ikatan peptidoglikan, menurunkan cairan membran sel, dan menyebabkan kebocoran isi sel (Hasan *et al*., 2023).

Hasil ini sejalan dengan temuan yang menyatakan bahwa quercetin dan flavonoid alami lainnya memiliki kemampuan spesifik dalam merusak struktur dinding sel dan membran bakteri Gram-positif (Zhang *et al*., 2025). Kerusakan pada lapisan pelindung ini menyebabkan disintegrasi struktur seluler dan kebocoran isi sitoplasma yang esensial bagi kelangsungan hidup bakteri (Herlina *et al*., 2025). Flavonoid berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri yang efektif terhadap bakteri Gram-positif melalui mekanisme langsung dengan komponen lipid bilayer membran (Hasan *et al*., 2023).

Sementara itu, tidak adanya zona hambat (*n.d*) terhadap *P. aeruginosa* terlihat pada Gambar 4.2 (c) disebabkan oleh sifatnya sebagai bakteri Gram-negatif dengan struktur dinding

sel kompleks, termasuk lapisan luar lipopolisakarida (LPS) yang dapat menghambat penetrasi senyawa flavonoid (Reynolds & Kollef, 2021). Selain itu, keberadaan porin selektif, pompa effluks, dan kemampuan membentuk biofilm padat memperkuat resistensinya terhadap agen antibakteri (Ugwuanyi *et al*., 2021). Faktor-faktor ini menyebabkan senyawa dalam ekstrak fraksi madu tidak mampu menembus sel secara efektif, sehingga aktivitas antibakteri tidak menunjukkan adanya hambatan terhadap *P. aeruginosa*. Ketiadaan zona hambat pada seluruh ekstrak fraksi mengindikasikan tingginya resistensi intrinsik bakteri ini terhadap senyawa bioaktif madu (Verdial *et al*., 2023).

Hasil ini sejalan dengan temuan Hu & Chua (2025) yang menyatakan bahwa *P. aeruginosa* resisten terhadap berbagai antibiotik, termasuk penisilin, tetrasiklin, sulfonamida, makrolida, kloramfenikol bahkan golongan β-laktam seperti karbapenem. Menurut Ren *et al*. (2024), lapisan biofilm dan pompa effluks secara signifikan mengurangi akumulasi senyawa antibakteri di dalam sel *P. aeruginosa* sehingga senyawa alami yang secara umum efektif terhadap bakteri Gram-positif menjadi kurang efektif terhadap Gram-negatif seperti *P. aeruginosa*.

Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan zona hambat antar ekstrak fraksi dan

jenis bakteri ($p<0,05$), sehingga menjawab hipotesis pertama dengan hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis alternatif (H_1) diterima. Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak fraksi madu berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan aktif alami dalam sediaan topikal, khususnya untuk penanganan jerawat yang disebabkan oleh bakteri Gram-positif.

D. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Evaluasi aktivitas antibakteri pada ekstrak fraksi madu *A. dorsata* dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antiinflamasi untuk menilai kemampuan ekstrak fraksi dalam menghambat proses peradangan yang berkaitan dengan mekanisme patogenesis jerawat (Anwar *et al*., 2024). Pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak fraksi madu *A. dorsata* diukur dengan metode inhibisi denaturasi protein albumin yang hasilnya dinyatakan dalam bentuk rata-rata persen inhibisi (% inhibisi) beserta standar deviasi (SD). Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 660 nm. Konsentrasi ekstrak fraksi madu *A. dorsata* yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1.000 bpj, dengan

kontrol positif natrium diklofenak pada enam konsentrasi bertingkat, yaitu 6,25; 12,5; 25; 50; 100; dan 1000 bpj, serta satu kontrol negatif berupa akuades. Hasil uji antiinflamasi ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*) ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Persentase Inhibisi Denaturasi Protein Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) Konsentrasi 1.000 bpj

Kode Sampel	Ekstrak Fraksi	Rata-rata % inhibisi ± SD
AD1	n-heksana	$40,33\pm0,23^{f}$
	etil asetat	$42,46\pm0,16^{g}$
	air	$36,38\pm0,16^{de}$
AD2	n-heksana	$39,81\pm0,11^{f}$
	etil asetat	$42,57\pm0,16^{g}$
	air	$37,99\pm0,17^{e}$
AD3	n-heksana	$40,30\pm0,17^{f}$
	etil asetat	$42,30\pm0,11^{g}$
	air	$37,65\pm0,16^{e}$
AD4	n-heksana	$40,41\pm0,17^{f}$
	etil asetat	$43,65\pm0,22^{h}$
	air	$37,24\pm0,22^{d}$

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik ($p < 0,05$) berdasarkan uji *one way* ANOVA dilanjutkan uji *post hoc* Tukey HSD.

Pemilihan metode inhibisi denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) secara *in vitro* didasarkan pada asumsi

bahwa denaturasi protein merupakan salah satu mekanisme awal yang merepresentasikan proses inflamasi dalam tubuh (Kumar *et al*., 2020). Denaturasi ditandai oleh perubahan struktur tiga dimensi protein akibat rusaknya ikatan non-kovalen yang mempertahankan konformasi alaminya, sehingga protein kehilangan fungsi biologis normal (Rohmah & Yuanita, 2022). Senyawa yang mampu mencegah atau menghambat proses ini dianggap memiliki potensi antiinflamasi karena dapat menstabilkan struktur protein dan menekan jalur patofisiologi inflamasi (Anwar *et al*., 2024).

Bovine serum albumin (BSA) dipilih sebagai model protein dalam uji ini karena memiliki struktur dan fungsi biologis yang relatif stabil serupa dengan albumin manusia (Farida *et al*., 2018). BSA sangat sensitif terhadap suhu tinggi dan kondisi lingkungan ekstrem (seperti pH asam atau basa) yang dapat menyebabkan denaturasi dan pengendapan protein. Oleh karena itu, apabila ekstrak fraksi madu dalam penelitian ini mampu menghambat denaturasi BSA, maka hal tersebut mengindikasikan adanya kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi berperan sebagai agen antiinflamasi (Novika *et al*., 2021).

Pada penelitian ini, proses denaturasi diinduksi melalui pemanasan pada suhu 72°C selama 5 menit. Kemampuan ekstrak fraksi madu dalam menghambat denaturasi protein

akibat paparan panas menunjukkan adanya interaksi atau ikatan antara molekul dalam ekstrak fraksi madu dengan molekul BSA (Drăgan *et al*., 2019). Adanya interaksi ini memungkinkan molekul dalam ekstrak fraksi madu berperan sebagai agen pelindung terhadap perubahan konformasi protein yang diakibatkan oleh paparan suhu tinggi (Rohmah & Yuanita, 2022).

Berdasarkan hasil uji *one way* ANOVA Lampiran 14, menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0,05$). Hasil uji *post hoc* Tukey HSD memperlihatkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat secara signifikan lebih tinggi aktivitas antiinflamasinya dibandingkan ekstrak fraksi air dan sebagian besar ekstrak fraksi n-heksana. Perbedaan ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dengan potensi antiinflamasi lebih banyak terekstraksi dalam pelarut semi-polar (etil asetat) dibandingkan pelarut polar maupun non-polar.

Berdasarkan Tabel 4.3, ekstrak fraksi etil asetat dari sampel AD4 (Nusa Tenggara Timur) pada konsentrasi 1.000 bpj menunjukkan nilai persen inhibisi tertinggi sebesar 43,65 ± 0,22%. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak fraksi tersebut paling efektif dalam menghambat denaturasi protein BSA, sehingga mengindikasikan potensi antiinflamasi paling tinggi di antara ekstrak fraksi yang diuji. Menurut Syafitri *et al.* (2022), efektivitas ini diduga kuat berasal dari kandungan

senyawa bioaktif semi polar, terutama flavonoid dan senyawa fenolik yang berhasil ditarik secara selektif oleh pelarut etil asetat.

Penelitian Sari & Wulandari (2022) menyatakan bahwa senyawa-senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenolik diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi melalui beberapa mekanisme, antara lain stabilisasi struktur protein, penangkapan radikal bebas, serta penghambatan terhadap mediator inflamasi. Aktivitas ini berdampak pada pengurangan produksi mediator inflamasi yang bertanggung jawab atas gejala peradangan. Hal ini juga diperkuat oleh Derouich *et al*. (2025) yang menyatakan interaksi flavonoid dengan BSA terjadi melalui ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, dan ikatan ionik yang tidak mengubah konformasi utama protein, namun tetap menjaga stabilitas struktur sekunder dan tersiernya.

Tabel 4. 4 Persentase Inhibisi Denaturasi Natrium Diklofenak sebagai Kontrol Positif

Kode Sampel	Konsentrasi (bpj)	Rata-rata % inhibisi ± SD
Kontrol Negatif		0,00±0,00[a]
Na-Diklofenak	6,25	17,59±0,63[b]
	12,5	30,90±0,55[c]
	25	39,48±0,78[f]
	50	49,21±0,40[i]
	100	56,22±0,16[j]
	1000	64,24±0,19[k]

Tabel 4. 4 menunjukkan hasil bahwa aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak bersifat konsentrasi-dependen atau meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Konsentrasi 6,25 bpj diperoleh nilai inhibisi sebesar 17,59 ± 0,63%, kemudian meningkat pada konsentrasi 12,5 bpj sebesar 30,90 ± 0,55%, konsentrasi 25 bpj 39,48 ± 0,78%, konsentrasi 50 bpj 49,21 ± 0,40%, konsentrasi 100 bpj 56,22 ± 0,16%, hingga mencapai 64,24 ± 0,19% pada konsentrasi 1000 bpj. Kontrol negatif menunjukkan inhibisi sebesar 0,00 ± 0,00%, menunjukkan bahwa aktivitas inhibisi berasal dari bahan aktif yang diberikan pada sampel uji.

Natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan obat antiinflamasi non-steroid yang secara klinis efektif mengurangi inflamasi melalui mekanisme penghambatan sintesis prostaglandin (Hasan *et al*., 2023). Natrium diklofenak bekerja dengan menghambat jalur metabolisme asam arakidonat, terutama melalui enzim siklooksigenase (COX), sehingga menurunkan biosintesis prostaglandin sebagai mediator utama proses inflamasi (Derouich *et al*., 2020). Flavonoid sebagai senyawa bioaktif dalam ekstrak fraksi madu memiliki mekanisme penghambatan COX yang serupa dengan natrium diklofenak. Selain itu, flavonoid juga mampu menghambat enzim lipooksigenase (LOX), yang berperan dalam produksi mediator

inflamasi lain seperti leukotrien, sehingga memberikan potensi antiinflamasi yang lebih luas dibanding natrium diklofenak (Mukhopadhyay *et al*., 2023).

Berdasarkan Tabel 4.3 apabila dibandingkan dengan hasil inhibisi tertinggi sampel ekstrak fraksi etil asetat AD4 pada konsentrasi 1000 bpj (sebesar 43,65 ± 0,22%), maka dapat dilihat bahwa nilai tersebut masih lebih rendah dibandingkan natrium diklofenak pada konsentrasi 100 bpj. Namun, aktivitas tersebut telah melampaui inhibisi natrium diklofenak pada konsentrasi 25 bpj (39,48 ± 0,78%). Ekstrak fraksi etil asetat AD4 memiliki potensi antiinflamasi yang cukup kuat, meskipun masih di bawah kontrol positif pada konsentrasi tinggi. Hasil ini mengindikasikan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak fraksi etil asetat madu *A. dorsata* berpotensi memberikan efek antiinflamasi yang sebanding dengan obat antiinflamasi sintetis, meskipun berasal dari sumber alami.

Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar ekstrak fraksi yang diuji ($p<0,05$), sehingga menjawab hipotesis kedua dengan hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis alternatif (H_1) diterima. Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan secara *in vitro*, sehingga dapat mendukung efektivitasnya sebagai bahan aktif *anti-acne*. Hasil

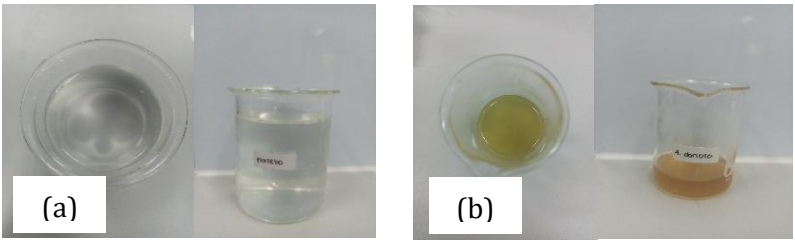
ini memperkuat dugaan bahwa kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak fraksi tersebut berperan dalam mekanisme antiinflamasi.

Ekstrak fraksi etil asetat AD4 (Nusa Tenggara Timur) madu lebah hutan (*A. dorsata*) menunjukkan potensi antiinflamasi yang signifikan, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai agen antiinflamasi pada kulit berjerawat. Aktivitasnya dalam menstabilkan protein serta menghambat mediator inflamasi dapat berkontribusi dalam meredakan kemerahan, nyeri, dan mempercepat penyembuhan jerawat (Saad, 2025). Selain itu, ekstrak fraksi ini juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dan *S. aureus* yang merupakan bakteri patogen penyebab jerawat. Kombinasi aktivitas antibakteri dan antiinflamasi menjadikan ekstrak fraksi etil asetat AD4 sebagai kandidat yang relevan untuk dikembangkan sebagai bahan aktif alami dalam formulasi sediaan topikal *anti-acne* seperti serum (Izma *et al*., 2023).

E. Formulasi dan Uji Sediaan Serum *Anti-acne* Berbasis Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Formulasi sediaan serum merupakan pengembangan produk kosmetik atau farmasi untuk mengatasi permasalahan kulit, seperti jerawat (Tort, 2021). Sediaan serum umumnya

memiliki viskositas rendah hingga sedang, daya serap tinggi, dan mampu menghantarkan bahan aktif secara efisien ke lapisan kulit (Manurung *et al*., 2023). Pada penelitian ini, ekstrak fraksi etil asetat AD4 (Nusa Tenggara Timur) pada konsentrasi 100.000 bpj digunakan sebagai bahan aktif utama, karena terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamasi yang telah diujikan sebelumnya. Pengembangan serum *anti-acne* ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*) dilakukan melalui dua rancangan formulasi yang ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4. 3 Tampilan Visual Serum *Anti-acne* Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*). a: plasebo (tanpa bahan aktif sebagai formulasi kontrol), b: formulasi aktif (mengandung ekstrak fraksi madu)

Gambar 4.3 menunjukkan dua jenis formulasi serum *anti-acne* yang dikembangkan dalam penelitian ini, yaitu (a) formulasi plasebo yang berfungsi sebagai kontrol atau pembanding tanpa adanya penambahan bahan aktif dan (b)

formulasi aktif yang mengandung ekstrak fraksi madu *A. dorsata* sebagai komponen utama yang diharapkan memberikan efek farmakologis. Formulasi dilakukan dengan komposisi bahan dasar yang sama, sehingga perbedaan yang diamati dapat lebih terfokus pada keberadaan adanya ekstrak fraksi madu sebagai bahan aktif. Tujuan pembuatan dua formulasi digunakan untuk membandingkan stabilitas dan aktivitas biologis sediaan dengan dan tanpa ekstrak fraksi madu (Suwiński & Nowak, 2024).

Komponen dasar yang digunakan dalam kedua formulasi meliputi karbopol dan alginat sebagai pembentuk gel untuk memberikan viskositas khas serum (Pedro *et al.,* 2022). Propilena glikol berfungsi sebagai humektan untuk menjaga kelembapan dan stabilitas serum, sedangkan asam sorbat dan asam benzoat digunakan sebagai pengawet. Akuades digunakan sebagai pelarut utama (Kurebayashi *et al.,* 2024).

Formulasi ini dirancang untuk menghasilkan sediaan topikal yang stabil, aman, dan efektif. Evaluasi sediaan dilakukan untuk menilai kesesuaian produk sebelum uji efikasi mencakup parameter homogenitas, pH, dan daya sebar seperti disajikan pada Tabel 4.5. Hal ini sejalan dengan studi Safitri *et al.* (2021) yang menekankan pentingnya pengujian seperti pH, daya sebar, dan uji stabilitas yang tidak hanya memenuhi standar formulasi, tetapi juga mampu memberikan manfaat

terapeutik yang konsisten selama penyimpanan maupun saat digunakan.

Tabel 4. 5 Hasil Uji Sediaan Serum *Anti-acne* Berbasis Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Parameter	Hasil Pengamatan	Keterangan
Homogenitas	Homogen	Homogen (tidak memisah)
Daya Sebar (cm)	5,2	Baik (mudah menyebar saat pengujian)
pH	6	Sesuai rentang pH kulit

a. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk menilai keseragaman distribusi bahan aktif dalam sediaan serum (Abraham *et al*., 2022). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sediaan serum bersifat homogen tanpa adanya pemisahan fase, endapan, atau gumpalan. Sediaan serum yang dibuat menunjukkan stabilitas dengan kombinasi ekstrak fraksi madu dan bahan dasar lain yang terbukti kompatibel (Hossain *et al.*, 2023).

Homogenitas sediaan merupakan indikator penting untuk menjamin bahwa bahan aktif tersebar merata di seluruh volume produk, sehingga setiap penggunaan memberikan dosis konsisten dan efektivitas yang optimal (Tungadi, 2020). Ketidakhomogenan dapat menyebabkan distribusi bahan aktif tidak seimbang, sehingga dapat memengaruhi efektivitas

terapeutik dan potensi timbulnya iritasi (Hasrawati *et al*., 2020). Oleh karena itu, hasil yang menunjukkan homogenitas yang baik pada sediaan serum mendukung kualitas formulasi dan kesiapan produk untuk tahap pengujian lanjutan.

b. Daya Sebar

Uji daya sebar merupakan parameter penting dalam evaluasi sediaan serum (Hasrawati *et al*., 2020). Semakin baik daya sebar sediaan serum, maka semakin efektif bahan aktif dapat terdistribusi secara optimal ke dalam kulit (Esposito *et al*., 2021). Nilai daya sebar sediaan serum yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 5,2 cm yang termasuk dalam kategori baik untuk sediaan topikal.

Studi oleh Hossain *et al.* (2023) menyatakan bahwa pada formulasi gel topikal berbasis alginat dan madu nilai *spreadability* antara 4,8–5,5 cm, dengan kestabilan yang terjaga selama penyimpanan enam bulan. Temuan tersebut menekankan bahwa daya sebar yang optimal berperan penting dalam meningkatkan bioavailabilitas bahan aktif, khususnya dalam mendukung penetrasi senyawa antibakteri dan antiinflamasi ke lapisan kulit yang mengalami infeksi atau peradangan.

c. pH

Pengukuran pH bertujuan untuk menjaga integritas lapisan asam pelindung kulit (*acid mantle*) (Tan & Lio, 2025).

Lapisan ini berfungsi sebagai penghalang alami terhadap patogen dan iritan lingkungan sehingga aman dan nyaman digunakan terutama pada kulit berjerawat (Hasrawati *et al*., 2020). Hasil pengukuran pH sediaan serum pada penelitian ini menunjukkan nilai sebesar 6, yang termasuk dalam rentang pH fisiologis kulit, yaitu 4,5–6,5.

Hasil ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa produk topikal dengan pH antara 4 hingga 6 dinilai optimal dalam menjaga keseimbangan mikrobioma kulit dan menghambat kolonisasi bakteri patogen (Lukić *et al.*, 2021). Kestabilan pH pada sediaan ini turut mendukung efektivitas bahan aktif dalam ekstrak fraksi madu *A. dorsata*, baik sebagai agen antibakteri maupun antiinflamasi tanpa mengganggu keseimbangan biologis kulit. Selain itu, pH yang sesuai juga berperan dalam menjaga struktur dan aktivitas senyawa bioaktif seperti flavonoid dan asam fenolat agar tetap stabil selama penyimpanan dan penggunaan topikal (Derwin *et al*., 2022).

Sediaan serum *anti-acne* berbasis ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*) menunjukkan karakteristik yang memenuhi syarat produk topikal, seperti homogenitas, daya sebar yang baik, dan pH yang sesuai dengan kulit. Komposisi bahan penunjang mendukung stabilitas sediaan dan keamanan penggunaan topikal. Oleh karena itu, sediaan serum ini

memiliki potensi sebagai produk kosmetik alami dengan manfaat antibakteri dan antiinflamasi terhadap jerawat.

F. Uji Efikasi *Anti-acne* dan Antiinflamasi Sediaan Serum Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

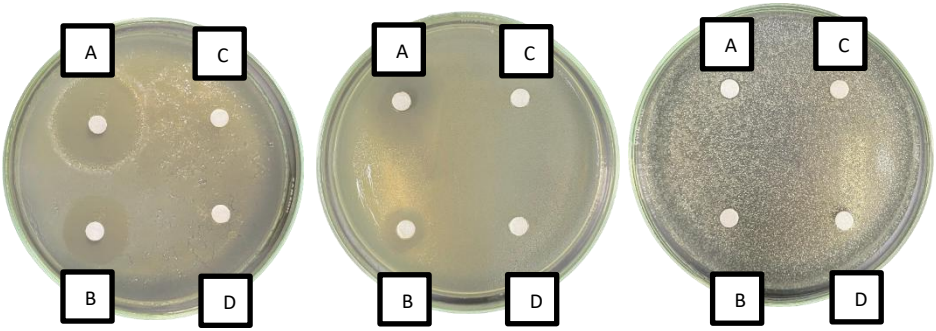
1. Uji Efikasi *Anti-acne* Sediaan Serum Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Uji efikasi antibakteri dilakukan untuk memastikan bahwa kemampuan ekstrak fraksi madu *A. dorsata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri tetap terjaga setelah diformulasikan menjadi sediaan serum topikal (Hossain *et al.,* 2023). Indikator efektivitas pada uji ini ditunjukkan oleh besarnya zona hambat yang dihasilkan terhadap tiga bakteri uji, yaitu *P. acnes*, *S. aureus* dan *P. aeruginosa* berdasarkan metode difusi cakram. Hasil uji efikasi memberikan gambaran awal mengenai performa terapeutik sediaan sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut pada skala *in vivo* atau klinis (Nayaka *et al.,* 2020). Hasil uji efikasi serum *anti-acne* ekstrak fraksi madu lebah hutan (*A. dorsata*) dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4. 6 Hasil Uji Efikasi Serum *Anti-acne* Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*) Berdasarkan Uji Difusi Cakram

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)		
	P. acnes	*S. aureus*	*P. aeruginosa*
A	14,48±0,036[c]	6,23±0,035[c]	*n.d*
B	12,34±0,025[b]	04,11±0,025[b]	*n.d*
C	22,46±0,025[d]	22,46±0,025[d]	*n.d*
D	*n.d.*[a]	*n.d.*[a]	*n.d*
E	*n.d.*[a]	*n.d.*[a]	*n.d*

Keterangan: A = serum ekstrak fraksi AD4 etil asetat 100.000 bpj, B = ekstrak fraksi AD4 etil asetat 100.000 bpj, C = kloramfenikol 100 bpj (K+), D = plasebo, E = Akuades steril (K-). Perlakuan dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji *post hoc* Tukey HSD. *n.d* = *not detected*.



(a) (b) (c)

Gambar 4. 4 Hasil Pengujian Serum *Anti-acne* terhadap Bakteri *P. acnes* (a), *S. aureus* (b) *dan P. aeruginosa* (c). A: Kloramfenikol 100 bpj (K+), B: Serum Ekstrak Fraksi etil asetat AD4 100.000 bpj, C: Placebo, D: Akuades Steril (K-)(Dokumentasi Penelitian, 2025)

Berdasarkan uji *one way* ANOVA ($p<0,05$) Lampiran 15 hasil pengujian serum *anti-acne* menunjukkan bahwa formulasi ekstrak fraksi etil asetat AD4 pada konsentrasi 100.000 bpj ke dalam bentuk sediaan serum berpengaruh signifikan terhadap peningkatan zona hambat *P. acnes* dan *S. aureus*. Zona hambat pada *P. acnes* meningkat dari 12,34 ± 0,025 mm menjadi 14,48 ± 0,036 mm terlihat pada Gambar 4.4 (a), sedangkan pada *S. aureus* dari 4,11 ± 0,025 mm menjadi 6,23 ± 0,035 mm terlihat pada Gambar 4.4 (b). Kontrol positif kloramfenikol 100 bpj menunjukkan zona hambat terbesar 22,46 ± 0,025 mm, sementara kontrol negatif akuades steril dan placebo tidak menunjukkan aktivitas antibakteri (*n.d*).

Hasil ini mengindikasikan bahwa formulasi berperan penting dalam meningkatkan efektivitas senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak fraksi madu (Nayaka *et al.,* 2020). Formulasi serum membawa senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenolik tersebar lebih merata di permukaan media uji dan dapat menembus lebih efektif ke dalam sel target bakteri (Hossain *et al.,* 2023). Keberhasilan sistem penghantaran dalam sediaan topikal turut mendukung peningkatan senyawa aktif serta memaksimalkan interaksi antara senyawa dan target biologisnya (Mohd-Aspar *et al*., 2021)

Sementara itu, terhadap *P. aeruginosa*, baik pada ekstrak fraksi etil asetat maupun setelah diformulasikan ke dalam bentuk serum tetap tidak menunjukkan adanya zona hambat (*n.d*) terlihat pada Gambar 4.4 (c). Hal ini mengindikasikan bahwa proses formulasi serum belum mampu meningkatkan efektivitas ekstrak fraksi etil asetat dalam mengatasi bakteri Gram-negatif dengan struktur dinding sel yang kompleks (Langendonk *et al*., 2021). Penelitian Shamsudin *et al*. (2022) juga menyatakan bahwa kandungan dalam madu cenderung kurang efektif terhadap bakteri Gram-negatif yang memiliki lapisan dinding sel kompleks lipopolisakarida, namun bekerja lebih optimal pada bakteri Gram-positif.

Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Mitchell *et al*. (2023) yang mengevaluasi aktivitas antibakteri berbasis Manuka honey dalam bentuk hidrogel dan cryogel terhadap *P. aeruginosa*. Penelitian tersebut melaporkan bahwa tidak terdeteksi adanya zona hambat terhadap *P. aeruginosa* baik dalam bentuk cryogel maupun hidrogel. Temuan ini mengindikasikan bahwa madu memiliki keterbatasan dalam konsentrasi tertentu dalam menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram-negatif dengan struktur dinding sel sangat kompleks dengan lipopolisakarida (LPS) dan sistem resitensi yang kuat. Menurut Mohd-Aspar *et al*. (2021), efektivitas formulasi antibakteri untuk *P.*

aeruginosa sangat ditentukan oleh kombinasi antara jenis senyawa bioaktif, bentuk sediaan topikal yang digunakan, serta konsentrasi bahan aktif yang cukup untuk menembus penghalang seluler dan mencapai target biologisnya.

2. Uji Efikasi Antiinflamasi Sediaan Serum Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Uji efikasi antiinflamasi dilakukan untuk memastikan bahwa kemampuan ekstrak fraksi madu *A. dorsata* dalam meredakan peradangan tetap terjaga setelah diformulasikan menjadi sediaan kosmetik topikal. Uji ini dilakukan berdasarkan parameter inhibisi denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) sebagai indikator kemampuan bahan aktif dalam serum untuk menstabilkan struktur protein serta mencegah respons inflamasi yang dipicu oleh kerusakan jaringan (Gîlcescu *et al.,* 2024). Hasil uji efikasi antiinflamasi serum berdasarkan persentase inhibisi denaturasi protein dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4. 7 Hasil Uji Efikasi Antiinflamasi Serum Berdasarkan Persentase Inhibisi Denaturasi Protein

Sampel	Rata-rata % inhibisi ± SD
Serum Ekstrak Fraksi AD4 etil asetat 100.000 bpj	53,38 ± 0,22[d]
Ekstrak Fraksi AD4 etil asetat 100.000 bpj	43,65 ± 0,22[c]
Plasebo	17,59 ± 0,29[b]
Kontrol Negatif	0,00 ±0,00[a]

Keterangan: Huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik ($p < 0,05$) berdasarkan uji *post hoc* Tukey HSD.

Berdasarkan analisis statistik menggunakan *one way* ANOVA diketahui bahwa adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($p< 0,05$). Analisis lanjutan menggunakan uji *post hoc* Tukey HSD Lampiran 17, menunjukkan bahwa sediaan serum ekstrak fraksi etil asetat AD4 dengan konsentrasi 100.000 bpj menunjukkan nilai inhibisi tertinggi sebesar 53,38 ± 0,22%. Hasil ini menunjukkan bahwa sediaan serum memiliki aktivitas penghambatan terhadap denaturasi protein yang paling kuat di antara semua kelompok, termasuk ekstrak fraksi etil asetat AD4 pada konsentrasi 100.000 bpj dengan nilai 43,65 ± 0,22%, placebo dengan nilai 17,59 ± 0,29% dan kontrol negatif dengan nilai 0,00 ± 0,00%.

Peningkatan signifikan nilai inhibisi setelah ekstrak fraksi diformulasikan menjadi serum menandakan bahwa proses formulasi mampu meningkatkan efektivitas senyawa

aktif yang terkandung di dalamnya (Nezhad *et al*., 2021). Peningkatan ini dapat disebabkan oleh adanya bahan pendukung dalam serum seperti gliserin, propilena glikol, atau komponen lain yang berperan dalam meningkatkan interaksi senyawa aktif dengan BSA sehingga mengoptimalkan inhibisi denaturasi protein (Kim *et al*., 2020). Selain itu, peningkatan efektivitas ini juga dapat dikaitkan dengan kemampuan bahan dasar serum dalam mempertahankan stabilitas protein uji, sehingga memperpanjang interaksi senyawa aktif dengan protein dan memperbesar peluang terjadinya inhibisi denaturasi (Pavlou *et al.,* 2021).

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa propilena glikol merupakan pelarut tambahan (*co-solvent*) yang umum digunakan karena dapat meningkatkan kelarutan senyawa bioaktif dan memudahkan interaksinya dengan protein target (Carrer *et al*., 2020). Senyawa bioaktif berperan dalam menstabilkan struktur BSA sehingga tidak mengalami denaturasi akibat panas atau stres kimia. Propilena glikol mendukung proses ini dengan meningkatkan kelarutan dan homogenitas senyawa dalam larutan, sehingga interaksi dengan protein menjadi lebih optimal. Kemampuan senyawa bioaktif dalam mempertahankan konformasi BSA mencerminkan efektivitasnya dalam menekan respons inflamasi (Gîlcescu *et al.,* 2024). Sehingga, propilena glikol

tidak hanya berfungsi sebagai pelarut tambahan, tetapi juga berperan dalam menunjang keberhasilan uji antiinflamasi *in vitro*.

Selain itu, senyawa aktif dalam serum ekstrak fraksi madu juga bekerja dengan menghambat proses denaturasi protein dengan menekan produksi mediator inflamasi. Mekanisme ini erat kaitannya dengan penghambatan jalur biosintesis prostaglandin dan leukotrien (Kumar *et al*., 2020). Penghambatan terhadap biosintesis prostaglandin berkontribusi langsung terhadap penurunan respons inflamasi, seperti rasa nyeri, kemerahan, dan pembengkakan. Sementara itu, penghambatan terhadap biosintesis leukotrien berkontribusi terhadap migrasi sel imun (sel darah putih) ke area inflamasi (Derouich *et al*., 2020).

Formulasi serum ekstrak fraksi madu *A. dorsata* tidak hanya meningkatkan penetrasi senyawa bioaktif, namun mendukung optimalisasi efek farmakologisnya termasuk dalam penghambatan mediator inflamasi (Nirmala *et al*., 2023). Peningkatan aktivitas antiinflamasi yang terukur melalui uji denaturasi protein BSA menunjukkan konsistensi dengan temuan sebelumnya mengenai peran eksipien topikal dalam meningkatkan efektivitas formulasi (Nayak *et al*., 2020). Hal ini memperkuat klaim efikasi serum *anti-acne* berbasis ekstrak fraksi madu *A. dorsata* dan mendukung potensi

pengembangannya sebagai agen topikal yang efektif dalam menekan proses inflamasi khususnya yang berkaitan dengan patogenesis jerawat.

Temuan ini sejalan dengan penelitian Ibnu (2019), menyatakan bahwa madu manuka sebagai agen antiinflamasi topikal bahan alami mampu menekan respons inflamasi dengan mekanisme melalui penghambatan mediator proinflamasi. Menurut Hasan *et al*., (2023) perbandingan ini menunjukkan bahwa formulasi serum berbasis ekstrak fraksi madu *A. dorsata* memiliki potensi setara bahkan kompetitif dengan madu komersial yang sudah banyak diteliti. Keunggulannya terletak pada ketersediaan sumber daya lokal, sehingga secara ekonomi dan keberlanjutan dapat memberikan nilai tambah dalam pemanfaatan madu lebah hutan sebagai bahan baku farmasi dan kosmetik alami.

Formulasi serum ekstrak fraksi madu *A. dorsata* dapat dikembangkan sebagai produk *anti-acne* topikal yang tidak hanya bersifat antibakteri, tetapi juga memberikan efek ganda sebagai antiinflamasi. Karakteristik ini menjadikannya lebih unggul dibandingkan produk sintetik tunggal yang hanya menargetkan salah satu mekanisme (misalnya antibakteri tanpa antiinflamasi atau sebaliknya) (Parham *et al*., 2020). Pengembangan produk berbasis ekstrak fraksi madu *A. dorsata* berpeluang menjadi alternatif alami yang efektif,

aman, dan dapat diterima oleh konsumen, khususnya dalam konteks tren kosmetik yang semakin berkembang saat ini.

BAB V
PENUTUP

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro* terhadap bakteri penyebab jerawat. Ekstrak fraksi etil asetat AD4 (Nusa Tenggara Timur) pada konsentrasi 100.000 bpj menunjukkan zona hambat tertinggi terhadap *Propionibacterium acnes* (12,34 ± 0,025 mm) dan *Staphylococcus aureus* (4,11 ± 0,025 mm), namun tidak efektif terhadap *Pseudomonas aeruginosa.*
2. Ekstrak fraksi etil asetat madu lebah hutan (*Apis dorsata*) menunjukkan aktivitas antiinflamasi secara *in vitro.* Ekstrak fraksi etil asetat AD4 (Nusa Tenggara Timur) pada konsentrasi 1.000 bpj memiliki aktivitas tertinggi dalam menghambat denaturasi protein sebesar 43,65 ± 0,22%, sehingga berpotensi sebagai agen antiinflamasi alami.
3. Ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) berhasil diformulasikan menjadi sediaan serum *anti-acne* dengan menggunakan basis khas serum yang terdiri atas karbopol dan alginat, propilena glikol sebagai humektan, serta asam sorbat dan asam benzoat sebagai pengawet, sehingga

menghasilkan sediaan dengan karakteristik fisik yang stabil dan memenuhi kriteria sediaan topikal.

4. Sediaan serum *anti-acne* berbahan aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) memiliki karakteristik fisik dan biologis yang sesuai dengan kriteria sediaan topikal, yakni homogen, daya sebar 5,2 cm, pH 6,5, menunjukkan aktivitas biologis berupa zona hambat terhadap *Propionibacterium acnes* (14,48 ± 0,036 mm) dan *Staphylococcus aureus* (6,23 ± 0,035 mm) pada konsentrasi 100.000 bpj, serta aktivitas antiinflamasi sebesar 53,38 ± 0,22 % pada konsentrasi 1.000 bpj.

B. Saran

Beberapa saran guna mengembangkan penelitian ini meliputi:

1. Identifikasi dan karakterisasi lebih lanjut terhadap jenis-jenis flavonoid spesifik dalam ekstrak fraksi madu lebah hutan (*Apis dorsata*) menggunakan teknik kromatografi dan spektrometri (misalnya LC-MS atau HPLC), untuk menentukan flavonoid mana yang paling dominan dan paling aktif secara biologis.
2. Melakukan visualisasi kerusakan morfologi bakteri akibat senyawa aktif ekstrak fraksi madu lebah hutan

menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk memperkuat pengamatan mekanisme antibakteri.

3. Melakukan uji lanjutan untuk memastikan keamanan penggunaan serum dari ekstrak fraksi madu lebah hutan yang meliputi uji toksisitas, uji iritasi, uji alergi, serta uji keamanan jangka panjang pada penggunaan topikal.

DAFTAR PUSTAKA

Abdillah, F., & Kurniawan, K. (2022). Morphological characteristics of air bacteria in mannitol salt agar medium. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology, 5*(1), 353-359.

Abraham, S. (2019). *Monografi farmakologi klinik obat-obat diabetes mellitus tipe 2*. Edited by Kurniyanto. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen.

Abraham, S. A., Yashavanth, G., Deveswaran, R., Bharath, S., Azamathulla, M., & Shanmuganathan, S. (2022). Honey based hydrogel as delivery system for wound healing. *Materials Today: Proceedings, 49*, 1709–1718.

Achmad, Y. F., Yulfitri, A., & Ulum, M. B. (2021). Identifikasi jenis jerawat berdasarkan tekstur menggunakan GLCM dan backpropagation. *Jurnal Saintikom (Jurnal Sains Manajemen Informatika dan Komputer)*, 20(2), 139-146.

Acne Group, Combination of Traditional and Western Medicine Dermatology, Chinese Society of Dermatology, Chinese Dermatologist Association, & Dermatology Committee, Chinese Non-government Medical Institutions Association. (2019). Chinese guidelines for the management of *acne vulgaris*: 2019 update. *International Journal of Dermatology and Venereology*, 2(03), 129-137.

Adalina, Y., Mulyati, A. H., Oktasari, D., & Prayoga, P. (2024). Physico-chemical properties of multifloral honey *Apis dorsata* and monofloral honey of bees *Apis mellifera*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1315*(1), 012065. IOP Publishing.

Afrin, S., & Gupta, V. (2023). *Pharmaceutical formulation*. In StatPearls. StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32965910

Ahdyani, R., Rahayu, S., Zamzani, I., & Andika, A. (2020). Pengembangan sistem penghantaran berbasis nanopartikel dalam sediaan kosmetika herbal. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences), 4*(1), 289-299.

Ahmed, U., Rao, M. J., Qi, C., Xie, Q., Noushahi, H. A., Yaseen, M., Shi, X., & Zheng, B. (2021). Expression Profiling of Flavonoid Biosynthesis Genes and Secondary Metabolites Accumulation in Populus under Drought Stress. *Molecules*, 26(18), 5546. https://doi.org/10.3390/molecules26185546

Alaerjani, W. M. A., Abu-Melha, S., Alshareef, R. M. H., Al-Farhan, B. S., Ghramh, H. A., Al-Shehri, B. M. A., Bajaber, M. A., Khan, K. A., Alrooqi, M. M., Modawe, G. A., & Mohammed, M. E. A. (2022). Biochemical reactions and their biological contributions in honey. *Molecules, 27*(15), 4719.

Alamsyah, A. D. C. F., Hasbi, N., & Rosyunita, R. (2024). Analysis Antimicrobial Activity of Sumbawa White Honey against *Staphylococcus aureus* ATCC 25293. *Jurnal Biologi Tropis, 24*(4), 88–96.

Aljaghwani, A., Allemailem, K. S., Aljaghwani, L. F., Alrumaihi, F., Joseph, R. J., Khan, A. A., Almatroudi, A. (2021). Antimicrobial effect of different types of honey on selected ATCC bacterial strains. *Pharmacognosy Journal, 13*(1).

Al-Kafaween, M. A., Alwahsh, M., Mohd Hilmi, A. B., & Abulebdah, D. H. (2023). Physicochemical characteristics and bioactive compounds of different types of honey and their biological and therapeutic properties: A comprehensive review. *Antibiotics, 12*(2), 337. https://doi.org/10.3390/antibiotics12020337

Al-Khayri, J. M., Sahana, G. R., Nagella, P., Joseph, B. V., Alessa, F. M., & Al-Mssallem, M. Q. (2022). Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: A review. *Molecules, 27*(9), 2901.

Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. *Saudi Journal of Biological Sciences, 28*(4), 2188–2196. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017

Anita, A., Basarang, M., Arisanti, D., & Fatmawati, A. (2019). Analisis daya hambat ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*. In Prosiding Seminar Nasional Universitas Indonesia Timur (Vol. 1, No. 1, pp. 255-263).

Anwar, I., Malina, R., & Fitri, A. (2024). Penentuan kadar fenolik, flavonoid dan uji aktivitas antiinflamasi daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap penghambatan denaturasi protein. *Lansau: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(2), 110–123.

Apriyani, R. K., & Cantika, S. (2021). Uji aktivitas antibakteri madu hitam pahit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* di laboratorium analis kesehatan Politeknik Piksi Ganesha Bandung. *INFOKES (Informasi Kesehatan)*, *5*(1), 82-91.

Arhafna, C., Sarjani, T. M., & Pandia, E. S. (2023). Test the toxicity of the ethanol extract of Lacum leaves (*Cayratia trifolia* L.) using the brine shrimp lethality test (BSLT) method. *Jurnal Biologi Tropis, 23*(1), 471–479.

Asthana, S., Mathur, P., & Tak, V. (2014). Detection of carbapenemase production in gram-negative bacteria. *Journal of Laboratory Physicians*, 6(02), 69-75.

Baquero, F., Rodríguez-Beltrán, J., & Levin, B. R. (2024). Bacteriostatic cells instead of bacteriostatic antibiotics? *mBio, 15*(2), e0268023. https://doi.org/10.1128/mbio.02680-23

Bhutia, S. (2020). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of *Citrus macroptera* Montr. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 13*(8), 101–103. https://doi.org/10.22159/ajpcr.2020.v13i8.38063

Birinci, C., Kara, Y., Gıdık, B., Kolaylı, S., & Can, Z. (2025). Optimization of phenolic compound extraction from bee products via solvent systems and PCA integration. *Food Analytical Methods*, 1–11.

Borzyszkowska, D., Niedzielska, M., Kozłowski, M., Brodowska, A., Przepiera, A., Malczyk-Matysiak, K., Cymbaluk-Płoska, A., & Sowińska-Przepiera, E. (2022). Evaluation of hormonal factors in acne vulgaris and the course of acne vulgaris treatment with contraceptive-based therapies in young adult women. *Cells, 11*(24), 4078. https://doi.org/10.3390/cells11244078

Casoni, D., Cobzac, S. C. A., & Simion, I. M. (2024). Feasibility of UV–Vis spectroscopy combined with pattern recognition techniques to authenticate the medicinal

plant material from different geographical areas. *Journal of Analytical Science and Technology, 15*, 17. https://doi.org/10.1186/s40543-024-00428-2

Carrer, V., Alonso, C., Pont, M., Zanuy, M., Córdoba, M., Espinosa, S., Barba, C., Oliver, M.A., Marti, M., Coderch, L. (2020). Effect of propylene glycol on the skin penetration of drugs. *Archives of Dermatological Research, 312*(5), 337–352.

Chittasupho, C., Ditsri, S., Singh, S., Kanlayavattanakul, M., Duangnin, N., Ruksiriwanich, W., & Athikomkulchai, S. (2022). Ultraviolet radiation protective and anti-inflammatory effects of *Kaempferia galanga* L. rhizome oil and microemulsion: Formulation, characterization, and hydrogel preparation. *Gels, 8*(10), 639.

Chua, L. S., Segaran, A., & Wong, H. J. (2021). Identification of phytochemicals from the water extract of *Eurycoma longifolia* roots using solid-liquid and liquid-liquid extraction based fractionation techniques. *Acta Chimica Slovenica, 68*(4).

Chudzik, A., Migdał, P., & Paściak, M. (2022). Different *Propionibacterium acnes* phylotypes release distinct extracellular vesicles. *International Journal of Molecular Sciences, 23*(10), 5797. https://doi.org/10.3390/ijms23105797

Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P. P., Zhang, J., Bravo Lamas, L., Martínez Flórez, S., Agudo Toyos, P., Quiles, J. L., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules, 23*(9), 2322. https://doi.org/10.3390/molecules23092322

Cordeiro, A. C. F., Salvador, B. C., Szpak, R., Tonin, F. S., Borba, H. H. L., Maluf, D. F., & Wiens, A. (2022). Allergic contact dermatitis after the use of cosmetics containing parabens: Systematic review and meta-analysis. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *65*, e22210377.

Cristani, M., & Micale, N. (2024). Bioactive compounds from medicinal plants as potential adjuvants in the treatment of mild acne vulgaris. *Molecules, 29*(10), 2394. https://doi.org/10.3390/molecules29102394

Das, K., Asdaq, S. M. B., Khan, M. S., Amrutha, S., Alamri, A., Alhomrani, M., Alsanie, W. F., Bhaskar, A., Chandana shree, G., & Harshitha, P. (2022). Phytochemical investigation and evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of *Euphorbia hirta* ethanol leaf and root extracts: A comparative study. *Journal of King Saud University - Science, 34*(7), 102261. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102261

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology, 22*(4), 659-665.

Del Rosso, J. Q., & Kircik, L. (2024). The cutaneous effects of androgens and androgen-mediated sebum production and their pathophysiologic and therapeutic importance in acne vulgaris. *Journal of Dermatological Treatment, 35*(1), 2298878. https://doi.org/10.1080/09546634.2023.2298878

Deng, Y., Wang, F., & He, L. (2024). Skin barrier dysfunction in acne vulgaris: Pathogenesis and therapeutic

approaches. *Medical Science Monitor*, *30*, e945336. https://doi.org/10.12659/MSM.945336

Derbel, H., Elleuch, J., Mahfoudh, W., Michaud, P., Fendri, I., & Abdelkafi, S. (2023). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of bioactive proteins and peptides from *Rhodomonas sp. Applied Sciences, 13*(5), 3202. https://doi.org/10.3390/app13053202

Derouich, M., Bouhlali, E. D. T., Hmidani, A., Bammou, M., Bourkhis, B., Sellam, K., & Alem, C. (2020). Assessment of total polyphenols, flavonoids and anti-inflammatory potential of three Apiaceae species grown in the Southeast of Morocco. *Scientific African, 9*, e00507.

Derwin, R., Patton, D., Avsar, P., Strapp, H., & Moore, Z. (2022). The impact of topical agents and dressing on pH and temperature on wound healing: A systematic, narrative review. *International Wound Journal, 19*(6), 1397–1408. https://doi.org/10.1111/iwj.13733

Dessinioti, C., & Katsambas, A. (2024). The microbiome and acne: perspectives for treatment. *Dermatology and Therapy*, *14*(1), 31–44.

Djakaria, S. A., Batubara, I., & Raffiudin, R. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of selected Indonesian honey against bacteria of acne. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi, 23*(8), 267–275.

Dréno, B., Bettoli, V., Araviiskaia, E., Sanchez Viera, M., & Bouloc, A. (2018). The influence of exposome on acne. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 32*(5), 812-819.

Drăgan, M., Stan, C. D., Pânzariu, A., & Profire, L. (2019). Evaluation of anti-inflammatory potential of some new ferullic acid derivatives. *Farmacia, 64*(2), 194–197.

Dżugan, M., Grabek-Lejko, D., Swacha, S., Tomczyk, M., Bednarska, S., & Kapusta, I. (2020). Physicochemical quality parameters, antibacterial properties and cellular antioxidant activity of Polish buckwheat honey. *Food Bioscience, 34*, 100538.

Dzulasfi, D. (2021). Uji efektivitas antibakteri madu lebah hutan (*Apis dorsata*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 5(2), 8-13.

Edbert, D., Mertaniasih, N. M., & Endraswari, P. D. (2022). Phenotypic analyses of blood culture contaminants in COVID-19 intensive care unit using hierarchical clustering during the pandemic first wave in Surabaya. *Pathology and Laboratory Medicine International*, 7-13.

Elamine, Y., Imtara, H., Miguel, M. G., Anjos, O., Estevinho, L. M., Alaiz, M., & Lyoussi, B. (2021). Antibacterial activity of Moroccan Zantaz honey and the influence of its physicochemical parameters using chemometric tools. *Applied Sciences, 11*(10), 4675.

Elfirta, R. R., & Saskiawan, I. (2020). The functional character of *Auricularia auricula* crude polysaccharides: Antioxidant and antibacterial activity. *Berita Biologi, 19*(3), 433–440.

Emelda, A., Yuliana, D., Maulana, A., Kurniawati, T., Utamil, W. Y., Marwah, M., & Novianti, L. (2023). Gambaran penggunaan antibiotik pada masyarakat di Pasar Niaga Daya Makassar. *Indonesian Journal of Community Dedication, 5*(1), 13–18.

Esposito, T., Mencherini, T., Sansone, F., Auriemma, G., Gazzerro, P., Puca, R. V., Iandoli, R., & Aquino, R. P. (2021). Development, characterization, and clinical investigation of a new topical emulsion system containing a *Castanea sativa* spiny burs active extract. *Pharmaceutics, 13*(10), 1634.

Fahay, A. J., Rijal, S., Arsal, A. S. F., Kanang, I. L. D., & Dwimartyono, F. (2022). Pengaruh pemberian madu dari lebah (*Apis mellifera*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran, 2*(10), 687-693.

Fajar, I., Yudha Perwira, I., & Made Ernawati, N. (2022). Pengaruh derajat keasaman (pH) terhadap pertumbuhan bakteri toleran kromium heksavalen dari sedimen mangrove di Muara Tukad Mati, Bali. *Current Trends in Aquatic Science, 6*(1), 1–6.

Farida, Y., Rahmat, D., & Widia Amanda, A. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 16(2), 225–230.

Farooq, S., & Ngaini, Z. (2023). The enzymatic role in honey from honeybees and stingless bees. *Current Organic Chemistry*, *27*(14), 1215–1229.

Fasse, S., & Gottschalk, A. (2023). In vitro analysis of the anti-inflammatory activity in dairy products containing *Salicornia europaea*. *Chemical Engineering Transactions, 102*, 73–78.

Fatimatuzahro, D., Tyas, D. A., & Hidayat, S. (2019). Pemanfaatan ekstrak kulit ubi jalar ungu (*Ipomea*

batatas L.) sebagai bahan pewarna alternatif untuk pengamatan mikroskopis *Paramecium* sp. dalam pembelajaran biologi. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 2(1), 1-7.

Febriani, Y., Lubis, S. H., & Annisa, F. (2022). Formulation of red betel leaf extract serum (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) as antioxidant. *Journal of Pharmaceutical and Sciences, 5*(1), 120-127.

Febriyanti, L. (2023). Sistem pakar diagnosis penyakit jerawat di wajah berbasis web dengan metode certainty factor. *LOGIC: Jurnal Ilmu Komputer dan Pendidikan*, 1(5), 1250-1264.

Feknous, N., & Boumendjel, M. (2022). Natural bioactive compounds of honey and their antimicrobial activity. *Czech Journal of Food Sciences*, *40*(3), 163–178. https://doi.org/10.17221/46/2022-CJFS

Ferdian, P. R., Ghibran, H. M., Herlina, A. F., Nurhasanah, S., Nurjanah, N., Elfirta, R. R., Pribadi, A., Amalia L.R.L., Samudra, I. M. (2025). A report on the physicochemical and antioxidant properties of three Indonesian forest honeys produced by *Apis dorsata*. *Food Chemistry: X, 25*, 102156.

Fi. (2020). *Farmakope Indonesia* edisi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan Departemen Kesehatan.

Fitriana, M., Hajrin, W., Subaidah, W. A., Ridwan, S., & Pratiwi, E. T. (2024). Uji antiinflamasi ekstrak etanol *Ashitaba* (*Angelica keiskei*) secara in vitro. *Jurnal Biologi Tropis, 24*(2b), 239–247.

Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial susceptibility testing: A comprehensive review of currently used methods. *Antibiotics, 11*(4), 427. https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427

Ghlichloo, I., & Gerriets, V. (2019). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *StatPearls*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/

Gîlcescu Florescu, C. A., Stanciulescu, E. C., Berbecaru-Iovan, A., Balasoiu, R. M., & Pisoschi, C. G. (2024). In vitro assessment of free radical scavenging effect and thermal protein denaturation inhibition of bee venom for an anti-inflammatory use. *Current Health Sciences Journal, 50* (1), 81–86.

Ghosh, S., & Nandi, S. (2024). A comprehensive review on UV-visible spectroscopy and its application. *International Journal of All Research Education and Scientific Methods, 12*(1), 1501–1507.

Hajrin, W., Subaidah, W. A., Juliantoni, Y., & Wirasisya, D. G. (2021). Application of *Simplex Lattice Design* Method on the optimisation of deodorant roll-on formula of ashitaba (*Angelica keiskei*). *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2717 501-509.

Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., Olga, R., Fericean, L., Atwa, A. M., El-Nablaway, M., & Abdeen, A. (2024). Antibiotic action and resistance: Updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology, 14*, 1305294.

Hamdi, N. A. M., Azmi, N. A., Sabari, N. H. M., Harun, A. F., & Haris, M. S. (2023). An insight into the use and advantages of Carbopol in topical mucoadhesive drug delivery system: A systematic review. *Journal of Pharmacy, 3*(1), 53–65.

Handayani, T. H., Budiman, M., Amalia, R. L., Pribadi, A., Elfirta, R. R., & Ferdian, P. R. (2022). Aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid madu *Apis mellifera* dari hutan akasia (*Acacia crassicarpa*) Riau, Indonesia dengan beberapa perlakuan pengeringan. *Jurnal Biologi Indonesia*, *18*(2), 231-243.

Hardiana, H., & Wulandari, R. (2019). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Aceh Medika*, 3(2), 72-79.

Hasan, A. E. Z., Andrianto, D., Safithri, M., & Ahmada, I. G. C. (2023). Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activities of Indonesian *Apis dorsata* honey due to heating. *Indonesian Journal of Applied Research, 4*(2), 84–93.

Hasan, M. K., Akhter, S., Fatema, K., Hossain, M. R., Sultana, T., & Uzzaman, M. (2023). Selective modification of diclofenac to reduce the adverse effects; a computer-aided drug design approach. *Informatics in Medicine Unlocked, 36*, 101159.

Hasanah, A., & Utami, R. A. (2024). Keistimewaan madu lebah dalam Surah An-Nahl ayat 68-69 dan ilmu sains: Madu lebah dalam Surah An-Nahl ayat 68-69, keistimewaan madu lebah menurut ilmu sains, kesesuaian antara Al-Qur'an dan ilmu sains. *IHSANIKA: Jurnal Pendidikan Agama Islam, 2*(3), 273-286.

Hasnaeni, W., Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy), 5*(2), 175–182. https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149

Hasrawati, A., Hardianti, H., Qama, A., & Wais, M. (2020). Pengembangan ekstrak etanol limbah biji pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai serum antijerawat. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 7*(1), 1-8.

Herlina, T., Nishinarizki, V., Hardianto, A., & Latip, J. B. (2025). Review on antibacterial flavonoids from genus *Erythrina*: Structure-activity relationship and mode of action. *Heliyon, 11*(1).

Hidayah, H., Kusumawati, A. H., Sahevtiyani, S., & Amal, S. (2021). Literature review article: Aktivitas antioksidan formulasi serum wajah dari berbagai tanaman. *Journal of Pharmacopolium, 4*(2).

Hossain, M. L., Lim, L. Y., Hammer, K., Hettiarachchi, D., & Locher, C. (2022). A review of commonly used methodologies for assessing the antibacterial activity of honey and honey products. *Antibiotics, 11*(7), 975. https://doi.org/10.3390/antibiotics11070975

Hu, M., & Chua, S. L. (2025). Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Current challenges and emerging alternative therapies. *Microorganisms, 13*(4), 913. https://doi.org/10.3390/microorganisms13040913

Hummels, K. R., Berry, S. P., Li, Z., Taguchi, A., Min, J. K., Walker, S., & Bernhardt, T. G. (2023). Coordination of bacterial

cell wall and outer membrane biosynthesis. *Nature, 615*(7951), 300–304. https://doi.org/10.1038/s41586-023-05803-7

Ibnu, Y. S. (2019). Potensi madu sebagai terapi topikal otitis eksterna. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma, 8*(2), 7–22.

Ikrom, T. R., & Wasito. (2019). Studi in vitro ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria alba*) sebagai anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sain Veteriner, 32*(1), 105–116.

Imasari, T., & Masari, F. (2021). Deteksi bakteri T *Staphylococcus sp.* penyebab timbulnya jerawat dengan tingkat pengetahuan perawatan wajah siswa kelas XI SMK Negeri 1 Pagerwojo. *Jurnal Sintesis: Penelitian Ilmiah, Aplikasi dan Analisis*, 2(2), 58-65.

Ishak, A., Mazonakis, N., Spernovasilis, N., Akinosoglou, K., & Tsioutis, C. (2025). Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: Clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 80*(1), 1–17.

Izma, H., Rizki, M. I., Anwar, K., Anggraeni, D., Rahmatullah, S. W., Putra, A. M. P., & Sandi, D. A. D. (2023). Antibacterial activity of ethanol extract, n-hexane and ethyl acetate fraction of Mundar (*Garcinia forbesii*) pericarp. *JOPS (Journal of Pharmacy and Science), 6*(2), 112–121.

Jaya, F., Evanuarini, H., Susanto, E., & Azkarahman, A. R. (2024). Comparison of the bioactive properties of honey proteins from floral sources in Indonesia. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan, 34*(1), 75–86.

Kamarul Zaman, M. A., Azzeme, A. M., Ramli, S. N., Shaharuddin, N. A., Ahmad, S., & Abdullah, S. N. A. (2020). Solvent extraction and its effect on phytochemical yield and antioxidant capacity of woody medicinal plant, *Polyalthia bullata*. *BioRes, 15*(4), 9555–9568.

Karim, S. F. (2014). Uji aktivitas infusa daun srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap penurunan kadar asam urat dalam darah mencit (*Mus musculus*) (Doctoral dissertation, UIN Alauddin Makassar).

Kassym, L., Kussainova, A., Semenova, Y., & McLoone, P. (2024). Antimicrobial effect of honey phenolic compounds against *E. coli*: An in vitro study. *Pharmaceuticals, 17*(5), 560. https://doi.org/10.3390/ph17050560

Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. (2019). Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics, 9*(2), 49.

Khotimah, H., Anggraeni, E. W., & Setianingsih, A. (2018). Karakterisasi hasil pengolahan air menggunakan alat destilasi. *Jurnal Kemurgi*, 1(2), 34-38.

Kim, B., Cho, H. E., Moon, S. H., Ahn, H. J., Bae, S., Cho, H. D., & An, S. (2020). Transdermal delivery systems in cosmetics. *Biomedical Dermatology, 4*(1), 10.

Kim, H. J., & Kim, Y. H. (2024). Exploring acne treatments: From pathophysiological mechanisms to emerging therapies. *International Journal of Molecular Sciences, 25*(10), 5302. https://doi.org/10.3390/ijms25105302

Koch, W., Zagórska, J., Michalak-Tomczyk, M., Karav, S., & Wawruszak, A. (2024). Plant phenolics in the prevention and therapy of acne: A comprehensive

review. *Molecules, 29*(17), 4234. https://doi.org/10.3390/molecules29174234

Kipimbob, E., Bara, R., Wowor, P. M., & Posangi, J. (2019). Uji efek antibakteri *Chromodoris dianae* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *eBiomedis*, 7(1).

Krisyanella, K., Muslim, Z., Meinisasti, R., & Irawan, P. A. (2021). Screening fitokimia dan penetapan potensi madu hutan sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Propinibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Higea, 13*(1), 23-29. https://doi.org/10.21580/higea.2021.13.1.746

Kumar, R., Thakur, A. K., Chaudhari, P., & Banerjee, N. (2022). Particle size reduction techniques of pharmaceutical compounds for the enhancement of their dissolution rate and bioavailability. *Journal of Pharmaceutical Innovation, 17*(2), 333–352. https://doi.org/10.1007/s12247-021-09547-5

Kumar, V., Abbas, A., & Aster, J. (2020). *Buku ajar patologi dasar Robbins* (Edisi ke-10). Penerbit Elsevier Inc.

Kumari, K., Adhikari, P., Pandey, A., Samant, S. S., Lal, M., & Pande, V. (2024). Influence of solvent polarity on phytochemicals, antioxidants, and antimicrobial properties of *Delphinium denudatum*: A medicinal herb from Sainj Valley, Himachal Pradesh, India. *Bioactivities, 2*(1), 30–40. https://doi.org/10.3390/bioact2010003

Kumontoy, G. D. (2023). Pemanfaatan tanaman herbal sebagai obat tradisional untuk kesehatan masyarakat di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang

Mongondow Timur. *HOLISTIK, Journal of Social and Culture*.

Kunat-Budzyńska, M., Rysiak, A., Wiater, A., Grąz, M., Andrejko, M., Budzyński, M., Bryś, M. S., Sudziński, M., Tomczyk, M., Gancarz, M., Rusinek, R., & Ptaszyńska, A. A. (2023). Chemical composition and antimicrobial activity of new honey varietals. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 20*(3), 2458. https://doi.org/10.3390/ijerph20032458

Kurebayashi, A. K., Phan, K., Abdoh, A., Andreo-Filho, N., Lopes, P. S., Mohammed, Y., & Leite-Silva, V. R. (2024). Strategic approaches in formulation development for atopic dermatitis. *Cosmetics, 11*(4), 113. https://doi.org/10.3390/cosmetics11040113

Kuś, P. M., & Jerković, I. (2021). Application of the dehydration homogeneous liquid–liquid extraction (Dhlle) sample preparation method for fingerprinting of honey volatiles. *Molecules*, *26*(8), 2277

Kusumawati, N., Estikomah, S. A., & Amal, S. (2018). Uji efektivitas air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan madu randu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. *Pharmasipha: Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 2(2), 17-22.

Laksmitawati, D. R., & Tiffani, C. (2020). Aktivitas penghambatan denaturasi albumin dan efek anti-inflamasi campuran ekstrak herba meniran, daun kelor, daun salam. *Majalah Farmasetika, 4*(1), 233–239.

Langendonk, R. F., Neill, D. R., & Fothergill, J. L. (2021). The building blocks of antimicrobial resistance in

Pseudomonas aeruginosa: Implications for current resistance-breaking therapies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 11*, 665759.

Larasati, K., & Setyowati, E. (2022). Kelayakan masker lumpur untuk mengeringkan jerawat. *Beauty and Beauty Health Education*, 11(2), 38-42.

Layton, A. M., Thiboutot, D., & Tan, J. (2021). Reviewing the global burden of acne: How could we improve care to reduce the burden? *British Journal of Dermatology, 184*(2), 219–225. https://doi.org/10.1111/bjd.19502

Legiawati, L., Halim, P. A., Fitriani, M., Hikmahrachim, H. G., & Lim, H. W. (2023). Microbiomes in acne vulgaris and their susceptibility to antibiotics in Indonesia: A systematic review and meta-analysis. *Antibiotics (Basel), 12*(1), 145. https://doi.org/10.3390/antibiotics12010145

Li, H., Wu, M., She, S., Lin, G., Zhou, J., & Chen, L. (2022). Study on stable carbon isotope fractionation of rape honey from rape flowers (*Brassica napus* L.) to its unifloral ripe honey. *Food Chemistry*, *386*, 132754.

Liu, Y., Zhu, J., Liu, Z., Zhi, Y., Mei, C., & Wang, H. (2025). Flavonoids as promising natural compounds for combating bacterial infections. *International Journal of Molecular Sciences, 26*(6), 2455.

Lukić, M., Pantelić, I., & Savić, S. D. (2021). Towards optimal pH of the skin and topical formulations: From the current state of the art to tailored products. *Cosmetics, 8*(3), 69. https://doi.org/10.3390/cosmetics8030069

Machado, A., Toubarro, D., Baptista, J., Tejera, E., & Álvarez-Suárez, J. M. (2025). Selected honey as a multifaceted antimicrobial agent: Review of compounds, mechanisms, and research challenges. *Future Microbiology, 20*(7–9), 589–610.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Brock, T. D. (2015). *Brock biology of microorganisms* (14th ed.). New Jersey: Pearson Prentice Hall.

Mahani, Ferdian, P. R., Ghibran, H. M., Herlina, A. F., Nurhasanah, S., Nurjanah, N., Elfirta, R. R., Pribadi, A., Amalia, R. L. R., & Samudra, I. M. (2025). A report on the physicochemical and antioxidant properties of three Indonesian forest honeys produced by *Apis dorsata*. *Food Chemistry: X*, *25*, 102156. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102156

Mahoon, C. (2015). *Textbook of diagnostic microbiology* (4th ed.). USA: Saunders Elsevier.

Mamatha, D., Kaur, A., Sri, G. M., Maneesha, P., & Mounika, P. (2022). Formulation and evaluation of a poly herbal *anti-acne* fruit face wash gel. *Future Journal of Pharmaceuticals and Health Sciences, 2*(1), 45-51. https://doi.org/10.5530/fjphs.2022.1.5

Mangle, A. P., Bakal, R. L., Hatwar, P. R., Kalamb, V. S., & Jumde, K. S. (2024). The role of serums in addressing skin concerns: Exploring efficacy, safety and trends in beauty and skincare. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 29*(2), 66–76. https://doi.org/10.30574/gscbps.2024.29.2.0216

Manurung, B. L., Monica, E., & Rollando, R. (2023). Formulasi dan evaluasi antioksidan daun kelor *Moringa oleifera* L

dalam sediaan serum dengan metode senyawa radikal DPPH. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi, 3*(2), 66–77.

Marek-Jozefowicz, L., Nedoszytko, B., Grochocka, M., Żmijewski, M. A., Czajkowski, R., Cubała, W. J., & Slominski, A. T. (2023). Molecular mechanisms of neurogenic inflammation of the skin. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(5), 5001.

Marwah, F., Julyani, S., Abdi, D. A., & Sodiqah, Y. (2022). Uji sensitivitas madu lebah hutan (*Apis dorsata*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* penyebab acne vulgaris. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran, 2*(8), 578-584.

MaX., Wang, H., Song, Y., & Pan, Y. (2021). Skin irritation potential of cosmetic preservatives: An exposure-relevant study. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *20*(1), 195–203 https://doi.org/10.1111/jocd.13502

Mayslich, C., Grange, P. A., & Dupin, N. (2021). *Cutibacterium acnes* as an opportunistic pathogen: An update of its virulence-associated factors. *Microorganisms*, *9*(2), 303.

Metrics (2021). Prevalence of acne vulgaris in Indonesia: Comparative data from hospitals and clinics. *Journal of Clinical Dermatology (prevalence data published in 2021)*.

Minarti, Ruga, R., & Marliana, E. (2021). Aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) dalam menghambat denaturasi protein. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2021, 5*(5), 103–107.

Mitchell, K., Panicker, S. S., Adler, C. L., O'Toole, G. A., & Hixon, K. R. (2023). Antibacterial efficacy of manuka honey-doped chitosan-gelatin cryogel and hydrogel scaffolds in reducing infection. *Gels, 9*(11), 877. https://doi.org/10.3390/gels9110877

Mitsui, T. (1997). *New cosmetic science*. Elsevier.

Moguel, R., Martínez, B., Carlos, J., & Ruiz, R. (2022). Impact of germination time on protein solubility and anti-inflammatory properties of *Pisum sativum* L grains. *Food Chemistry: X, 15*, 100219. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100219

Mohagheghian, B., Saeidi, G., & Arzani, A. (2025). Phenolic compounds, antioxidant enzymes, and oxidative stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes under field drought-stress conditions. BMC Plant Biology, 25(1), 709.

Mohd-Aspar, M. A., Edros, R., & Hamzah, N. A. (2021). Optimisation of topical antibacterial preparation from Malaysian kelulut honey by using xanthan gum as polymeric agent. *Tropical Biomedicine, 38*(3), 226–238. https://doi.org/10.47665/tb.38.3.062

Molan, P. C. (1992). The antibacterial activity of honey: Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World*, 73(1), 5-28.

Mosca, S., Ottaviani, M., Briganti, S., Di Nardo, A., & Flori, E. (2025). The sebaceous gland: A key player in the balance between homeostasis and inflammatory skin diseases. *Cells, 14*(10), 747. https://doi.org/10.3390/cells14100747

Mukhopadhyay, N., Shukla, A., Makhal, P. N., & Kaki, V. R. (2023). Natural product-driven dual COX-LOX inhibitors: Overview of recent studies on the development of novel anti-inflammatory agents. *Heliyon, 9*(3), e14569.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2015). *Medical microbiology*. Elsevier Health Sciences.

Muslim, T. (2014). Potensi Madu Hutan sebagai Obat dan Pengelolaannya di Indonesia. In *Prosiding Seminar Balitek KSDA*, Vol. 3, pp. 67-82.

Mustafa, G., Iqbal, A., Javid, A., Manzoor, M., Aslam, S., Ali, A., & Hussain, A. (2022). Antibacterial properties of Apis dorsata honey against some bacterial pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 730-734.

Nayak, A. K., Ansari, M. T., Sami, F., Singh, H. K. B., & Hasnain, M. S. (2020). Alginates as drug delivery excipients. In *Alginates in drug delivery* (pp. 19–39). Academic Press.

Nayaka, N. M. D. M. W., Fidrianny, I., Sukrasno, Hartati, R., & Singgih, M. (2020). Antioxidant and antibacterial activities of multiflora honey extracts from the Indonesian *Apis cerana* bee. *Journal of Taibah University Medical Sciences, 15*(3), 211–217. https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2020.04.005

Nezhad-Mokhtari, P., Javanbakht, S., Asadi, N., Ghorbani, M., Milani, M., Hanifehpour, Y., & Akbarzadeh, A. (2021). Recent advances in honey-based hydrogels for wound healing applications: Towards natural therapeutics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology, 66*.

Ni Putu Eka Leliqia, N. K. C. A. T., & Ni Luh Putu Vidya Paramita. (2021). Potensi madu kele bali dan kombinasinya dengan VCO sebagai *anti-acne*. *SCIENTIA Jurnal Farmasi dan Kesehatan, 11*(1), 88-95. https://doi.org/10.37393/scientia.v11i1.395

Nindia, L. (2021). Aktivitas antiinflamasi resin jernang (*Daemonorops draco* (Willd.)) pada mencit putih (Doctoral dissertation, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan).

Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliasari, H., & Deccati, R. F. (2023). Analysis of optimal conditions of bovine serum albumin (BSA) protein denaturation inhibition method in anti-inflammatory activity testing of various plant leaf extracts. *Journal of Agritechnology and Food Processing, 3*(2), 101–113.

Nolan, V. C., Harrison, J., & Cox, J. A. G. (2019). Dissecting the antimicrobial composition of honey. *Antibiotics, 8*(4), 251. https://doi.org/10.3390/antibiotics8040251

Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. (2021). Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap penghambatan denaturasi protein. *Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 3(1), 16–22.

Nuari, S., Anam, S., & Khumaidi, A. (2017). Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Briton & Rose). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 3(2), 118-125.

Onatayo, D. A., Srinivasan, R. S., & Shah, B. (2023). Ultraviolet radiation transmission in buildings' fenestration: Part

I, detection methods and approaches using spectrophotometer and radiometer. *Buildings, 13*(7), 1670.

Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2023). Chronic inflammation. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances, 37*(1), 177–192. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013

Parać, E., Špiljak, B., Lugović-Mihić, L., & Bukvić Mokos, Z. (2023). Acne-like eruptions: Disease features and differential diagnosis. *Cosmetics, 10*(3), 89. https://doi.org/10.3390/cosmetics10030089

Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., RamaKrishna, S., & Berto, F. (2020). Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials. *Antioxidants*, *9*(12), 1309. https://doi.org/10.3390/antiox9121309

Pariury, J. A., Herman, J. P. C., Rebecca, T., Veronica, E., & Arijana, I. G. K. N. (2021). Potensi kulit jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) sebagai antibakteri *Propionibacterium acne* penyebab jerawat. *Hang Tuah Medical Journal*, 19(1), 119-131.

Pasombak, S. I., Yunianti, L., Arsal, A. S. F., Julyani, S., & Irmandha, S. (2021). Pengaruh penggunaan madu untuk pengobatan akne vulgaris. *Indonesian Journal of Health*, 1(03), 156-162.

Patil, H., Kumawat, R., & Waghmare, J. (2025). Formulation and characterization of microemulsions containing argan oil: A promising delivery system for cosmeceutical applications. *Research Journal of Pharmacy and Technology,* *18*(5), 2132–2136. https://doi.org/10.52711/0974-360X.2025.00306

Pavlačková, J., Egner, P., Slavík, R., Mokrejš, P., & Gál, R. (2020). Hydration and barrier potential of cosmetic matrices with bee products. *Molecules*, *25*(11), 2510.

Pavlou, P., Siamidi, A., Varvaresou, A., & Vlachou, M. (2021). Skin care formulations and lipid carriers as skin moisturizing agents. *Cosmetics,* *8*(3), 89. https://doi.org/10.3390/cosmetics8030089

Pedisić, S., Čulina, P., Pavlešić, T., Vahčić, N., Elez Garofulić, I., Zorić, Z., Dragović-Uzelac, V., & Repajić, M. (2023). Efficiency of microwave and ultrasound-assisted extraction as a green tool for polyphenolic isolation from monofloral honeys. *Processes,* *11*(11), 3141. https://doi.org/10.3390/pr11113141

Pedro, S. N., Mendes, M. S. M., Neves, B. M., Almeida, I. F., Costa, P., Correia-Sá, I Vilela, C., Freire, M.G., Silvestre, A. J.D., Freire, C. S. R., (2022). Deep eutectic solvent formulations and alginate-based hydrogels as a new partnership for the transdermal administration of anti-inflammatory drugs. *Pharmaceutics,* *14*(4), 827. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040827

Peng, Q., Tang, X., Dong, W., Sun, N., & Yuan, W. (2022). A review of biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and its regulation mechanism. *Antibiotics,* *12*(1), 12. https://doi.org/10.3390/antibiotics12010012

Pote, C. L., Shirsat, D. V., Mahadule, P. A., Gade, K. A., Pandit, T. R., Soumia, P. S., & Karuppaiah, V. (2025). Biochemical, antioxidants, and mineral constituents of stingless bee honey. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *9*, 1546843.

Prestianti, I., Baharuddin, M., & Sappewali, S. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah hutan (*Apis dorsata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia, 14*(2), 313–322.

Priya, B. K., Reddy, D. A., Rani, A. D., Kalahasthi, N., Soliman, W. G., & Reddy, D. R. K. (2023). Automatic inhibition zone diameter measurement for disc diffusion test using image segmentation. *IETE Journal of Research*, 69(8), 5708-5725.

Putri, S. A. R., Susanto, H., Tambun, S. H., & Oktiarso, T. (2022). Uji aktivitas antibakteri pada macam-macam madu pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar dan dilusi cair. *Sainsbertek: Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, *2*(2), 85-97.

Rahayu, S. (2017). Isolasi pektin dari kulit pepaya (*Carica papaya* L.) dengan metode refluks menggunakan pelarut HCl encer (Doctoral dissertation, Politeknik Negeri Sriwijaya).

Rahayuningsih, N. (2020). Aktivitas antidiabetika beberapa fraksi-ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) pada tikus putih jantan dengan induksi aloksan. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, *20*(1), 43-51.

Rahman, M. M., Shahid, M. A., Hossain, M. T., Sheikh, M. S., Rahman, M. S., Uddin, N., Hossain, I. (2024). Sources, extractions, and applications of alginate: A review. *Discover Applied Sciences, 6*(8), 443. https://doi.org/10.1007/s42452-024-01786-0

Rakha, A., Umar, N., Rabail, R., Butt, M. S., Kieliszek, M., Hassoun, A., & Aadil, R. M. (2022). Anti-inflammatory and anti-allergic potential of dietary flavonoids: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 156*, 113945.

Rakhmat, I. I., Yuslianti, E. R., & Alatas, F. (2020). Isolasi senyawa aktif flavonoid rutin madu sebagai metabolit sekunder bahan baku pengembangan obat diabetes melitus. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *5*(1), 43-50.

Rara, I., & Hidayat, R. (2023). Inflammatory response plays a role in innate immunity: A narrative literature review. *Open Access Indonesian Journal of Medical Reviews, 3*(2), 369–378.

Ren, J., Wang, M., Zhou, W., & Liu, Z. (2024). Efflux pumps as potential targets for biofilm inhibition. *Frontiers in Microbiology, 15*, 1315238.

Reynolds, D., & Kollef, M. (2021). The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update. Drugs, 81(18), 2117-2131.

Richardson, A. R. (2019). Virulence and metabolism. *Microbiology Spectrum, 7*(2), 10–1128.

Ristianti, V., Monica, E., & Aziz, N. (2023). Formulasi dan evaluasi sediaan serum wajah yang mengandung

minyak atsiri kulit buah jeruk keprok *Citrus reticulata* Blanco sebagai anti acne. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi, 4*(1), 58–65.

Rohmah, U. N., & Yuanita, L. (2022). Pengaruh waktu panen terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *UNESA Journal of Chemistry*, 7(2), 144–150.

Rollando, R., Ongkowijoyo, G. N., Yoedistira, C. D., & Monica, E. (2023). Pengembangan analisis metil paraben dan propil paraben pada sediaan kosmetik dengan menggunakan spektrofotometer derivatif dan kemometrik multivariat. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 20(1), 10-19.

Rozi, F. F., & Arif, S. (2023). Konsep shifa' dalam Alquran (perspektif M. Quraish Shihab dalam tafsir Al-Mishbah). *Pedagogika: Jurnal Ilmu-Ilmu Kependidikan*, 3(1), 69-75.

Rusli, Z., & Setiawan, L. A. (2020). Modifikasi Metode Analisis Daya Hambat terhadap Proses Denaturasi Protein yang Diinduksi oleh Panas. *Chemical Engineering* Research Articles, 3(2).

Saad, B. (2025). Immunomodulatory and anti-inflammatory properties of honey and bee products. *Immuno, 5*(2), 19. https://doi.org/10.3390/immuno5020019

Sabir, A., & Sumidarti, A. (2017). Interleukin-6 expression on inflamed rat dental pulp tissue after capped with Trigona sp. propolis from South Sulawesi, Indonesia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 1034-1037.

Safitri, E., & Purnobasuki, H. H. (2022). *Aplikasi madu sebagai aktivator stem cell*. Airlangga University Press.

Safitri, E., Purnobasuki, H., Purnama, M. T. E., & Chhetri, S. (2022). Effectiveness of forest honey (*Apis dorsata*) as therapy for ovarian failure causing malnutrition. *F1000Research, 11*, 512.

Safitri, F. I., Nawangsari, D., & Febrina, D. (2021). Overview: Application of carbopol 940 in gel. In *International Conference on Health and Medical Sciences (AHMS 2020)* (pp. 80–84). Atlantis Press.

Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) pada berbagai metode ekstraksi. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1).

Sanchez, C., & Keri, J. (2022). Androgen receptor inhibitors in the treatment of acne vulgaris: Efficacy and safety profiles of clascoterone 1% cream. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 1357–1366. https://doi.org/10.2147/CCID.S370732

Saravanan, J. R., & Jayakumar, N. D. (2021). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using aqueous extract of *Ocimum sanctum* and analysis of antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic activity of *Ocimum sanctum* copper oxide nanoparticles—An in vitro study. *International Journal of Dentistry and Oral Science, 8*(6), 2848–2852.

Sari, D. P., & Wulandari, R. L. (2022). Efek antiinflamasi ekstrak etanol dari *Cymbopogon nardus* pada tikus diinduksi karagenan. *Prosiding Mandala Waluya*, 19(1), 16–23.

Sari, E. K., Dellima, B. R. E. M., & Azizah, F. N. (2025). Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dengan metode denaturasi protein. *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian, 6*(1), 56–67.

Sartini, S., & Karim, A. (2018). Efektivitas beberapa produk pembersih wajah *anti-acne* terhadap bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes. BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(1), 31-41.

Senduk, T. W., Montolalu, L. A., & Dotulong, V. (2022). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove Sonneratia alba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, *11*(1), 9-15.

Setiawan, N. C. E., & Febriyanti, A. (2017). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr dengan metode DPPH. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*, *1*(1), 1-5.

Shaker, N. S., & Al-Musawi, M. T. (2022). Assessment of the prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* among Iraqi patients with acne and study of their antibiotic susceptibility patterns. *International Journal of Health Sciences, 6*(4), 3031–3039.

Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Ali Shah, S. A., Khatib, A., Mukhtar, S., Alsharif, M.A., Parveen, H., Zakaria, Z. A. (2022). Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: A comparative interpretation. *Molecules, 27*(4), 1149. https://doi.org/10.3390/molecules27041149

Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah* (Vol. 2, pp. 52-54). Jakarta: Lentera Hati

Sıcak, Y., Şahin-Yağlıoğlu, A., & Öztürk, M. (2021). Bioactivities and phenolic constituents relationship of Muğla thyme and pine honey of Turkey with the chemometric approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*(4), 3694-3707.

Silva, B., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Fett, R., Dalmarco, E. M., Caon, T., & Costa, A. C. O. (2021). In vitro anti-inflammatory properties of honey flavonoids: A review. *Food Research International, 141*, 110086. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110086

Staudenmaier, L., Focken, J., Schlatterer, K., Kretschmer, D., & Schittek, B. (2022). Bacterial membrane vesicles shape *Staphylococcus aureus* skin colonization and induction of innate immune responses. *Experimental Dermatology*, 31(3), 349-361.

Suleiman, M. H., ALaerjani, W. M. A., & Mohammed, M. E. A. (2020). Influence of altitudinal variation on the total phenolic and flavonoid content of *Acacia* and *Ziziphus* honey. *International Journal of Food Properties, 23*(1), 2077–2086.

Sultana, S., Lawag, I. L., Lim, L. Y., Foster, K. J., & Locher, C. (2024). A critical exploration of the total flavonoid content assay for honey. *Methods and Protocols, 7*(6), 95. https://doi.org/10.3390/mps7060095

Sun, D. M., Rini, D. I., & Nurina, R. L. (2019). Uji aktivitas antibakteri larutan madu hutan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 16(1), 66-73.

Suryani, S., Nafisah, A., & Mana'an, S. (2017). Optimasi formula gel antioksidan ekstrak etanol buah bligo (*Benincasa*

hispida) dengan metode *Simplex Lattice Design* (SLD). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)* (e-Journal), 3(2), 150–156.

Sutaria, A. H., Masood, S., Saleh, H. M., & Schlessinger, J. (2023). Acne vulgaris. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Suwiński, G., & Nowak, I. (2024). Innovative honey-based product and its beneficial effects measured by modern biophysical and imaging skin techniques. *Pharmaceuticals, 17*(12), 1709.

Syafitri, Y., Wasanti, I. H. I., & Puspasari, H. (2022). Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid madu hutan (*Apis dorsata*) Kapuas Hulu dengan metode KLT dan spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)*, 9(1), 17–23

Tan, Z., Deng, J., Ye, Q., & Zhang, Z. (2022). The antibacterial activity of natural-derived flavonoids. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *22*(12), 1009-1019.

Tan, I. J., & Lio, P. A. (2025). From discovery to modern understanding: The acid mantle in dermatology. *Journal of Integrative Dermatology*.

Tilarso, D. (2022). Pengaruh gelling agent pada sediaan serum jerawat kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah belimbing wuluh. *AFAMEDIS*, 3(1), 1-7.

Tort, S. (2021). Serum type hyaluronic acid formulations: In vitro characterization and patch test study. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 46*(3), 271–278.

Tungadi, R. (2020). *Teknologi nano sediaan liquida dan semisolida*. CV Sagung Seto.

Ugwuanyi, F. C., Ajayi, A., Ojo, D. A., Adeleye, A. I., & Smith, S. I. (2021). Evaluation of efflux pump activity and biofilm formation in multidrug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a federal medical center in Nigeria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 20*(1), 11.

Uniyal, A., Prakash, C., Nautiyal, B., Reang, I., Rawat, A., & Chauhan, S. (2019). Morphometric characterization of honeybee *Apis dorsata* in Dehradun District, Uttarakhand. *International Journal of Advanced Research and Development, 4*(1), 42–45.

Utama, A. P., & Minerva, P. (2021). Kelayakan masker buah pare untuk perawatan kulit wajah berjerawat. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 5(3), 7589-7597.

Veerichetty, V., Saravanabavan, I., & Pradeep, A. (2023). Formulation and evaluation of ointment for acne treatment. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 23*(2), 050-060.

Verdial, C., Serrano, I., Tavares, L., Gil, S., & Oliveira, M. (2023). Mechanisms of antibiotic and biocide resistance that contribute to *Pseudomonas aeruginosa* persistence in the hospital environment. *Biomedicines, 11*(4), 1221. https://doi.org/10.3390/biomedicines11041221

Wadi, M. A. (2022). In vitro antibacterial activity of different honey samples against clinical isolates. *Biomed Research International, 2022*, 1560050. https://doi.org/10.1155/2022/1560050

Wali, P., Asri, S. R. M., & Sadsyam, S. (2024). Formulation of *anti-acne* mask of papaya leaf extract (*Carica papaya* L.) and honey against *Propionibacterium acnes*. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, *1*(2), 8-17.

Wang, B., Wu, L., Chen, J., Dong, L., Chen, C., Wen, Z., & Wang, D. W. (2021). Metabolism pathways of arachidonic acids: Mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy, 6*(1), 94.

Wibowo, A. A., Haidir, T. M., Adzkiyah, S. N., & Umami, M. (2022). Potensi lebah madu (*Apis dorsata*) sebagai biofarmasi masyarakat Desa Cikijing Kab. Majalengka ditinjau dalam perspektif Islam.

Wijayanti, N., Oklima, A. M., Nurwahidah, S., & Kusnayadi, H. (2022). Habitat characteristics of the honeybee (*Apis dorsata*), harvesting methods of forest honey, and characteristics of Sumbawaforest honey in Sumbawa Regency, Indonesia. *Journal of Global Sustainable Agriculture*, *3*(1), 14–18. https://doi.org/10.59311/jgsa.v3i1.110

Winastri, N. L. A. P., Muliasari, H., & Hidayati, E. (2020). Aktivitas antibakteri air perasan dan rebusan daun calincing (*Oxalis corniculata* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*, 19(2), 223-230.

Wong, C. M., Guo, C., Scheufele, C. J., Nguyen, D. A., Charles, J. E. M., Carletti, M., & Weis, S. E. (2024). Presentations of cutaneous disease in various skin pigmentations: Acne vulgaris – Comedonal acne. *HCA Healthcare Journal of Medicine, 5*(1), 19–25.

Wulandari, A., & Rahmawardany, C. Y. (2022). Perilaku penggunaan antibiotik di masyarakat. *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian, 15*(1), 9–16.

Yoo, H. B., Yang, I., Kim, J. H., Jung, I. I., Kang, H., Jung, H., & Park, S. R. (2021). High-sensitivity microvolume UV absorption spectrometry for routine analysis of small-volume biological samples. *Biotechniques, 70*(5), 251–262.

Yu, H., Zhang, B., Zhan, Y., Yi, Y., Jiang, Q., Zhang, Q., & Wu, M. (2024). Neutrophil extracellular trap-related mechanisms in acne vulgaris inspire a novel treatment strategy with adipose-derived stem cells. *Scientific Reports, 14*(1), 1521.

Zahara, I., Fahri, F., Lamerkabel, J. S., Qashiratuttarafi, Q., Juliandi, B., & Raffiudin, R. (2022). Landmark-based geometric morphometric of *Apis dorsata* and *A. d. binghami* wing venation in Indonesian archipelagos. *HAYATI Journal of Biosciences, 29*(5), 658–668.

Zahrah, H., Mustika, A., & Debora, K. (2019). Aktivitas antibakteri dan perubahan morfologi dari *Propionibacterium acnes* setelah pemberian ekstrak *Curcuma xanthorrhiza*. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 20(3), 160.

Zhang, R., Zhou, L., Lv, M., Yue, N., Fei, W., Wang, L., & Zhang, J. (2022). The relevance of sex hormone levels and acne grades in patients with acne vulgaris: A cross-sectional study in Beijing. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2211–2219.

Zhou, H., Luo, D., Chen, D., Tan, X., Bai, X., Liu, Z., Yang, X., & Liu, W. (2021). Current advances of nanocarrier

technology-based active cosmetic ingredients for beauty applications. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, 14*, 867–887.

Zimmerman, T., Ibrahim, M., & Ibrahim, S. A. (2021). Teaching aspects of antibiotics and antimicrobials to the food science student through a combination wet lab and *in silico* activity. *Journal of Microbiology & Biology Education, 22*(2), 10–1128.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Uji ANOVA Rendemen Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Rendemen	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rendemen	n-hexane	.159	12	.200*	.911	12	.219
	etil asetat	.184	12	.200*	.960	12	.786
	H2O	.133	12	.200*	.963	12	.819

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Rendemen	Based on Mean	3.218	2	33	.053
	Based on Median	2.219	2	33	.125
	Based on Median and with adjusted df	2.219	2	25.167	.130
	Based on trimmed mean	3.137	2	33	.057

ANOVA

Rendemen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38507.164	2	19253.582	9084.317	.000
Within Groups	69.941	33	2.119		
Total	38577.105	35			

Rendemen

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Jenis	N	1	2	3
etil asetat	12	6.7283		
n-hexane	12		12.3175	
H2O	12			78.7325
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

Lampiran 2 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD1 n-heksana

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.253	3	.	.964	3	.637
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.292	3	.	.923	3	.463
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.276	3	.	.942	3	.537
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	4.166	7	16	.009
	Based on Median	1.321	7	16	.303
	Based on Median and with adjusted df	1.321	7	6.543	.367
	Based on trimmed mean	3.897	7	16	.012

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1226.344	7	175.192	309162.370	.000
Within Groups	.009	16	.001		
Total	1226.353	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05				
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000				
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000				
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3		1.2567			
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		1.2767			
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3			2.1867		
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				2.5200	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3					22.4667
Sig.		1.000	.963	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 3 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD1 etil asetat

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.304	3	.	.907	3	.407
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	4.318	7	16	.007
	Based on Median	1.374	7	16	.281
	Based on Median and with adjusted df	1.374	7	6.986	.343
	Based on trimmed mean	4.039	7	16	.010

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1216.881	7	173.840	190509.729	.000
Within Groups	.015	16	.001		
Total	1216.895	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3		1.3400				
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3			1.6300			
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3				2.3533		
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3					2.7933	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 4 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD1 air

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.292	3	.	.923	3	.463
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.285	3	.	.932	3	.497
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.292	3	.	.923	3	.463
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.292	3	.	.923	3	.463
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	5.830	7	16	.002
	Based on Median	1.481	7	16	.243
	Based on Median and with adjusted df	1.481	7	4.210	.364
	Based on trimmed mean	5.356	7	16	.003

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1231.276	7	175.897	151853.146	.000
Within Groups	.019	16	.001		
Total	1231.294	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	4	5
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000				
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000				
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3		1.1367			
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		1.1867			
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3			2.1167		
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				2.3633	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3					22.4667
Sig.		1.000	.629	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 5 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD2 n-heksana

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.328	3	.	.871	3	.298
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.219	3	.	.987	3	.780
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.328	3	.	.871	3	.298
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	3.817	7	16	.013
	Based on Median	1.014	7	16	.458
	Based on Median and with adjusted df	1.014	7	7.714	.488
	Based on trimmed mean	3.532	7	16	.017

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1217.054	7	173.865	350651.946	.000
Within Groups	.008	16	.000		
Total	1217.062	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3		1.4067				
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3			1.6267			
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3				2.2367		
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3					2.7867	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 6 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD2 etil asetat

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.196	3	.	.996	3	.878
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.292	3	.	.923	3	.463
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	3.091	7	16	.029
	Based on Median	1.734	7	16	.171
	Based on Median and with adjusted df	1.734	7	7.225	.239
	Based on trimmed mean	2.998	7	16	.033

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1205.914	7	172.273	323012.643	.000
Within Groups	.009	16	.001		
Total	1205.922	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3		1.5267				
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3			1.8067			
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3				2.8767		
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3					3.1233	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 7 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD2 air

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.232	3	.	.980	3	.726
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	2.976	7	16	.034
	Based on Median	1.536	7	16	.225
	Based on Median and with adjusted df	1.536	7	8.294	.276
	Based on trimmed mean	2.870	7	16	.038

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1222.442	7	174.635	312778.404	.000
Within Groups	.009	16	.001		
Total	1222.451	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3		1.2333				
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3			1.5167			
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3				2.2267		
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3					2.5933	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 8 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD3 n-heksana

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.314	3	.	.893	3	.363
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.292	3	.	.923	3	.463
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.232	3	.	.980	3	.726
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	3.501	7	16	.018
	Based on Median	1.340	7	16	.295
	Based on Median and with adjusted df	1.340	7	8.715	.336
	Based on trimmed mean	3.316	7	16	.022

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1204.067	7	172.010	317556.233	.000
Within Groups	.009	16	.001		
Total	1204.076	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		1.3167				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3			1.9733			
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				2.9533		
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3					4.1900	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 9 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD3 etil asetat

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.292	3	.	.923	3	.463
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	2.749	7	16	.044
	Based on Median	1.437	7	16	.258
	Based on Median and with adjusted df	1.437	7	10.000	.291
	Based on trimmed mean	2.655	7	16	.050

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1190.316	7	170.045	458548.668	.000
Within Groups	.006	16	.000		
Total	1190.322	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		2.0967				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3			2.1933			
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				3.2867		
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3					5.3367	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 10 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD3 air

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.232	3	.	.980	3	.726
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.349	3	.	.832	3	.194
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	4.189	7	16	.008
	Based on Median	1.041	7	16	.442
	Based on Median and with adjusted df	1.041	7	5.801	.490
	Based on trimmed mean	3.859	7	16	.012

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1211.176	7	173.025	210792.107	.000
Within Groups	.013	16	.001		
Total	1211.189	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		1.2733				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3			1.5633			
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				2.8933		
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3					3.6633	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 11 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD4 n-heksana

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.276	3	.	.942	3	.537
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.292	3	.	.923	3	.463
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	4.139	7	16	.009
	Based on Median	1.488	7	16	.241
	Based on Median and with adjusted df	1.488	7	6.632	.312
	Based on trimmed mean	3.902	7	16	.011

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1222.715	7	174.674	297316.713	.000
Within Groups	.009	16	.001		
Total	1222.724	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		1.5833				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3			2.7167			
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				3.3200		
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3					7.8800	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 12 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD4 etil asetat

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.253	3	.	.964	3	.637
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.276	3	.	.942	3	.537
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	3.213	7	16	.025
	Based on Median	1.363	7	16	.286
	Based on Median and with adjusted df	1.363	7	8.294	.332
	Based on trimmed mean	3.064	7	16	.030

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1329.465	7	189.924	367593.934	.000
Within Groups	.008	16	.001		
Total	1329.473	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		2.3100				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3			3.1267			
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				4.1167		
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3					12.3433	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 13 Hasil Uji ANOVA Antibakteri AD4 air

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	100.000 ppm Propionibacterium acnes	.219	3	.	.987	3	.780
	50.000 ppm Propionibacterium acnes	.232	3	.	.980	3	.726
	10.000 ppm Propionibacterium acnes	.	3	.	.	3	.
	100.000 ppm Staphylococcus aureus	.253	3	.	.964	3	.637
	50.000 ppm Staphylococcus aureus	.232	3	.	.980	3	.726
	10.000 ppm Staphylococcus aureus	.	3	.	.	3	.
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	3.030	7	16	.031
	Based on Median	1.536	7	16	.225
	Based on Median and with adjusted df	1.536	7	8.498	.274
	Based on trimmed mean	2.919	7	16	.036

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1206.837	7	172.405	252300.390	.000
Within Groups	.011	16	.001		
Total	1206.848	23			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	4	5	6
10.000 ppm Propionibacterium acnes	3	.0000					
10.000 ppm Staphylococcus aureus	3	.0000					
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000					
50.000 ppm Staphylococcus aureus	3		1.4633				
50.000 ppm Propionibacterium acnes	3			2.0567			
100.000 ppm Staphylococcus aureus	3				3.0467		
100.000 ppm Propionibacterium acnes	3					5.7667	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3						22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 14 Hasil Uji ANOVA Antiinflamasi Ekstrak Fraksi Madu Lebah Hutan (*A. dorsata*)

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Kode	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Inhibisi	AD1 n-hexane	.295	3	.	.920	3	.452
	AD1 etil asetat	.253	3	.	.964	3	.637
	AD1H2O	.253	3	.	.964	3	.637
	AD2 n-hexane	.178	3	.	.999	3	.952
	AD2 etil asetat	.253	3	.	.964	3	.637
	AD2H2O	.258	3	.	.960	3	.616
	AD3 n-hexane	.258	3	.	.960	3	.616
	AD3 etil asetat	.321	3	.	.881	3	.328
	AD3H2O	.253	3	.	.964	3	.637
	AD4 n-hexane	.243	3	.	.972	3	.679
	AD4 etil asetat	.292	3	.	.923	3	.463
	AD4H2O	.176	3	.	1.000	3	.975
	Natrium Diklofenak 6,25 ppm	.280	3	.	.938	3	.517
	Natrium Diklofenak 12,5 ppm	.349	3	.	.831	3	.190
	Natrium Diklofenak 25 ppm	.334	3	.	.860	3	.268
	Natrium Diklofenak 50 ppm	.273	3	.	.945	3	.548
	Natrium Diklofenak 100 ppm	.253	3	.	.964	3	.637
	Natrium Diklofenak 1000 ppm	.181	3	.	.999	3	.942
	Kontrol Negatif	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Inhibisi	Based on Mean	4.155	18	38	.000
	Based on Median	.741	18	38	.749
	Based on Median and with adjusted df	.741	18	8.959	.719
	Based on trimmed mean	3.724	18	38	.000

ANOVA

Inhibisi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9475.467	18	526.415	5135.842	.000
Within Groups	3.895	38	.102		
Total	9479.362	56			

Inhibisi

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05										
Sampel	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Kontrol Negatif	3	.0000										
Natrium Diklofenak 6,25 ppm	3		17.5967									
Natrium Diklofenak 12,5 ppm	3			30.9033								
AD1H2O	3				36.3867							
AD4H2O	3				37.2433	37.2433						
AD3H2O	3					37.6533						
AD2H2O	3					37.9900						
Natrium Diklofenak 25 ppm	3						39.4800					
AD2 n-hexane	3						39.8167					
AD3 n-hexane	3						40.3000					
AD1 n-hexane	3						40.3367					
AD4 n-hexane	3						40.4133					
AD3 etil asetat	3							42.3033				
AD1 etil asetat	3							42.4633				
AD2 etil asetat	3							42.5733				
AD4 etil asetat	3								43.6567			
Natrium Diklofenak 50 ppm	3									49.2100		
Natrium Diklofenak 100 ppm	3										56.2233	
Natrium Diklofenak 1000 ppm	3											64.2333
Sig.		1.000	1.000	1.000	.155	.341	.081	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 15 Hasil Uji ANOVA Antibakteri Formulasi Serum *Anti-acne* terhadap Bakteri *P. acnes*

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Sampel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	AD4 etil asetat 100.000 ppm Propionibacterium acnes	.219	3	.	.987	3	.780
	Serum AD4 etil asetat 100.000 ppm Propionibacterium acnes	.276	3	.	.942	3	.537
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.
	Plasebo	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	3.866	4	10	.038
	Based on Median	1.561	4	10	.258
	Based on Median and with adjusted df	1.561	4	4.745	.320
	Based on trimmed mean	3.675	4	10	.043

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1142.636	4	285.659	556478.429	.000
Within Groups	.005	10	.001		
Total	1142.641	14			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Sampel	N	1	2	3	4
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000			
Plasebo	3	.0000			
AD4 etil asetat 100.000 ppm Propionibacterium acnes	3		12.3433		
Serum AD4 etil asetat 100.000 ppm Propionibacterium acnes	3			14.4800	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3				22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 16 Hasil Uji ANOVA Antibakteri Formulasi Serum *Anti-acne* terhadap Bakteri *S. aureus*

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Sampel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	AD4 etil asetat 100.000 ppm Staphylococcus aureus	.219	3	.	.987	3	.780
	Serum AD4 etil asetat 100.000 ppm Staphylococcus aureus	.204	3	.	.993	3	.843
	Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	.219	3	.	.987	3	.780
	Aquades Steril (Kontrol Negatif)	.	3	.	.	3	.
	Plasebo	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Hambat	Based on Mean	2.915	4	10	.077
	Based on Median	1.907	4	10	.186
	Based on Median and with adjusted df	1.907	4	5.461	.238
	Based on trimmed mean	2.849	4	10	.082

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1035.491	4	258.873	517745.380	.000
Within Groups	.005	10	.000		
Total	1035.496	14			

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Sampel	N	1	2	3	4
Aquades Steril (Kontrol Negatif)	3	.0000			
Plasebo	3	.0000			
AD4 etil asetat 100.000 ppm Staphylococcus aureus	3		4.1167		
Serum AD4 etil asetat 100.000 ppm Staphylococcus aureus	3			6.2367	
Kloramfenikol 100 ppm (Kontrol Positif)	3				22.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 17 Hasil Uji ANOVA Antiinflamasi Formulasi Serum *Anti-acne*

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Kode	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Inhibisi	Serum Fraksi AD4 etil asetat 100.000 ppm	.292	3	.	.923	3	.463
	Plasebo	.227	3	.	.983	3	.748
	Kontrol Negatif	.	3	.	.	3	.
	Fraksi AD4 etil asetat 100.000 ppm	.292	3	.	.923	3	.463

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Inhibisi	Based on Mean	4.998	3	8	.031
	Based on Median	2.676	3	8	.118
	Based on Median and with adjusted df	2.676	3	2.280	.262
	Based on trimmed mean	4.830	3	8	.033

ANOVA

Inhibisi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5373.369	3	1791.123	3171.112	.000
Within Groups	4.519	8	.565		
Total	5377.888	11			

Inhibisi

Tukey HSD[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Kode	N	1	2	3	4
Kontrol Negatif	3	.0000			
Plasebo	3		17.1067		
Fraksi AD4 etil asetat 100.000 ppm	3			43.6567	
Serum Fraksi AD4 etil asetat 100.000 ppm	3				53.3867
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 18 Komposisi media *Nutrient Broth*

Bahan	Jumlah (g/L)
Peptone	5.000
Sodium chloride	5.000
HM peptone B	1.500
Yeast extract	1.500

Lampiran 19 Dokumentasi Penelitian





Lampiran 20 Riwayat Hidup

RIWAYAT HIDUP



A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Nur Faiqoh
2. Tempat Tanggal Lahir : Pemalang, 09 Juni 2003
3. Alamat Rumah : Jalan L. Perwira Dusun Situmpeng Desa Serang Kecamatan Petarukan Kabupaten Pemalang Jawa Tengah
4. No. Handphone : 0895359551796
5. E-mail : 2108016094@student.walisongo.ac.id

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri Genteng Kota Sukabumi
2. MI Islamiyah Petarukan
3. SMP Negeri 5 Petarukan
4. SMA Negeri 2 Pemalang
5. Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang

C. Pengalaman Organisasi

Anggota Organisasi Daerah IMPP (Ikatan Mahasiswa Pelajar Pemalang