PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK ETANOL MADU KELULUT (*Heterotrigona itama)* DAN FRAKSINYA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

MEI LIKA SYAROH
21482011255

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN SAMARINDA
SAMARINDA
2025

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK ETANOL MADU KELULUT (*Heterotrigona itama)* DAN FRAKSINYA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

SKRIPSI

Oleh:

MEI LIKA SYAROH
21482011255

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN SAMARINDA
SAMARINDA
2025

HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Skripsi	:	Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) dan Fraksinya dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.
Nama	:	Mei Lika Syaroh
NIM	:	21482011255
Program Studi	:	Sarjana Farmasi

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :

Samarinda, Juli 2025

Pembimbing I	Pembimbing II
Henny Nurhasnawati, S. Si., M.Si.	apt. Siti Jubaidah, S.Far., M.Pd.
NIDN. 1103067801	NIDN. 1109098302

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmatNya, penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul "**Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) dan Fraksinya dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis**". Pada kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah membantu moril maupun materil dalam penyusunan proposal ini, mudah-mudahan mendapat ridho dari Allah SWT, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak apt. Supomo, M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda;
2. Ibu Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si selaku pembimbing I, yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran dan pengarahan dengan penuh kesabaran kepada Penulis dari awal penyusunan proposal sampai penyelesaian penulisan proposal ini.
3. Ibu apt. Siti Jubaidah, S.Far., M.Pd. selaku pembimbing II, yang telah memberikan arahan dan bimbingan yang sangat bermanfaat dalam penulisan proposal ini.
4. Kedua orang tua penulis, alm Bpk. Junaidi dan alm Ibu Ernani, Terima kasih atas segala doa kasih sayang yang diberikan dalam membesarkan dan membimbing penulis selama ini sehingga penulis dapat terus berjuang dalam meraih mimpi dan cita-cita.
5. Seluruh dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
6. Kepada teman satu bimbingan penelitian proposal penulis yaitu Arfiatin Nurhidayah dan Maulidia Tri Astuti yang telah berjuang bersama-sama, dengan segala semangat dan kesungguhan, serta selalu memberikan motivasi dan dukungan dalam menyelesaikan proposal penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa proposal ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan

proposal ini. Penulis berharap semoga segala bantuan dan kebaikan yang diberikan oleh berbagai pihak mendapat balasan yang terbaik dari Tuhan Yang Maha Esa dan semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan menambah wawasan bagi pembaca.

Samarinda, 20 Januari 2025

Mei Lika Syaroh

ABSTRAK

Nama	:	Mei Lika Syaroh
NIM	:	21482011255
Judul Skripsi	:	Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) dan Fraksinya dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.
Pembimbing	:	1. Henny Nurhasnawati, S,Si., M.Si. 2. apt. Siti Jubaidah, S.Far., M.Pd.

Madu kelulut merupakan madu yang berasal dari lebah tanpa sengat (*Heterotrigona itama*) yang memiliki manfaat aktivitas bioligis sebagai antibakteri, antiinflamasi dan penyembuh luka, serta memiliki senyawa metabolit sekunder salah satunya yaitu fenolik. Senyawa fenolik merupakan senyawa kimia yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus kromofor. Tujuan pada penelitian ini untuk mengetahui kadar fenolik total ekstrak etanol pada madu kelulut dan fraksinya dari Kecamatan Loa Janan Ilir, Kota Samarinda dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Data kualitatif diperoleh melalui skrinning fitokimia madu kelulut, sedangkan data kuantitatif diperoleh dari penetapan kadar senyawa fenolik pada madu kelulut. Tahapan penelitian meliputi determinasi hewan, pengumpulan bahan baku, pengolahan simplisia madu kelulut, ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 95%, fraksinasi bertingkat, skrining fitokimia, dan uji kadar fenolik total ekstrak etanol dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan pembanding asam galat. Hasil penelitian menunjukkan kadar fenolik ekstrak etanol 95% adalah 1,2958±0,1362 mgGAE/g, fraksi n-heksana 1,2535±0,0254 mgGAE/g, fraksi etil asetat 2,9765±0,0733 mgGAE/g, dan fraksi etanol-air 1,1712±0,0175 mgGAE/g. Uji normalitas menunjukkan kadar fenolik total dari keempat kelompok uji adalah normal dan uji homogenitas nilai kadar fenolik total menghasilkan nilai p-value < 0,05 (tidak homogen). Berdasarkan Uji Kruskal-Wallis, nilai signifikansi (Sig.) 0,055 (< 0,05) menunjukkan bahwa rata-rata kadar fenolik dari keempat kelompok perlakuan (ekstrak etanol 95%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air) tidak ada perbedaan yang signifikan.

Kata Kunci : Fraksi, Fenolik Total, Madu kelulut, *Heterotrigona itama*, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Name	:	Mei Lika Syaroh
NIM	:	21482011255
Thesis Title	:	Determination of Total Phenolic Content of Ethanol Extract of Stingless Bee Honey (*Heterotrigona itama*) and its Fractions by UV-Vis Spectrophotometric Method.
Advisors	:	1. Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si. 2. apt. Siti Jubaidah, S.Far., M.Pd.

Kelulut honey is honey derived from stingless bees (Heterotrigona itama) which has the benefits of bioligical activity as an antibacterial, anti-inflammatory and wound healer, and has secondary metabolite compounds, one of which is phenolic. Phenolic compounds are chemical compounds that have conjugated double bonds and chromophore groups. The purpose of this study was to determine the total phenolic content of ethanol extracts in kelulut honey and its fractions from Loa Janan Ilir, Samarinda City by UV-Vis Spectrophotometric method. This type of research is experimental. Qualitative data were obtained through phytochemical screening of kelulut honey, while quantitative data were obtained from the determination of phenolic compound levels in kelulut honey. The research stages include animal determination, collection of raw materials, processing of kelulut honey simplisia, maceration extraction using 95% ethanol solvent, multistage fractionation, phytochemical screening, and testing the total phenolic content of ethanol extracts by UV-Vis spectrophotometric method using gallic acid comparator. The research results show that the phenolic content of 95% ethanol extract is 1.2958±0.1362 mgGAE/g, n-hexane fraction 1.2535±0.0254 mgGAE/g, ethyl acetate fraction 2.9765±0.0733 mgGAE/g, and ethanol-water fraction 1.1712±0.0175 mgGAE/g. The normality test indicates that the total phenolic content of the four test groups is normal, and the homogeneity test of the total phenolic content yielded a p-value < 0.05 (not homogeneous). Based on the Kruskal-Wallis Test, the significance value (Sig.) of 0.055 (< 0.05) indicates that there is no significant difference in the average phenolic content among the four treatment groups (95% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and ethanol-water fraction).

Keywords: Fraction, Phenolic, Stingless Bee honey, Heterotrigona itama, UV-Vis Spectrophotometry

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL ..... **i**
HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
KATA PENGANTAR ..... **iv**
ABSTRAK ..... **vi**
ABSTRACT ..... **vii**
DAFTAR GAMBAR ..... **x**
DAFTAR TABEL ..... **xi**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 3
C. Hipotesis 3
D. Tujuan Penelitian 3
E. Manfaat Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **4**
A. Gambaran Umum Madu 4
B. Kandungan Fitokimia Madu Kelulut 9
C. Simplisia 11
D. Ekstraksi 11
E. Maserasi 12
F. Fraksinasi 13
G. Uji Kadar Fenolik 13
H. Spektrofometri UV-Vis 15
BAB III METODE PENELITIAN **17**
A. Rancangan Penelitian 17
B. Objek Penelitian 17
C. Sampel dan Teknik Sampling 17
D. Variabel Penelitian 17
E. Definisi Operasional 18
F. Teknik Pengumpulan Data 19

G. Analisis Data 24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 25
A. Determinasi Hewan dan Pengolahan Simplisia 25
B. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut 25
C. Fraksinasi 26
D. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Madu Kelulut 28
E. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak dan Fraksi Madu Kelulut Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis 31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 35
A. Kesimpulan 35
B. Saran 35
DAFTAR PUSTAKA 36

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Lebah Kelulut 7
2. Morfologi Lebah Kelulut 8
3. Stuktur Fenolik 14
4. Struktur Asam Galat 15
5. Prinsip kerja alat spektrofometer UV-Vis 15
6. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Seri Asam Galat.....32

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Hasil Perhitungan Rendemen Fraksi.....27
2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Madu Kelulut.....28
3. Nilai Absorbansi Larutan Standar Seri Asam Galat 32
4. Kadar Fenolik Ekstrak Etanol dan Fraksi Madu Kelulut.....33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Alur Penelitian 43
2. Hasil Surat Determinasi Hewan 44
3. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut 45
4. Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak Madu Kelulut 95% 46
5. Fraksinasi Ekstrak Etanol 95% Menggunakan Pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol-air 47
6. Penguapan Fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol-air 49
7. Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak Fraksi n-heksana, Etil Asetat dan Etanol-Air Madu Kelulut 50
8. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut 51
9. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Fraksi n-heksana Madu Kelulut 52
10. Hasil Skrinning Fitokimia Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 53
11. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Fraksi Etanol-Air Madu Kelulut 54
12. Perhitungan Konsentrasi Larutan Induk Asam Galat 55
13. Hasil pengenceran larutan seri baku pembanding 56
14. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak Etanol 95%, Fraksi n-heksana, Etil Asetat Dan Etanol-Air Madu Kelulut 58
15. Pembuatan Larutan Induk dan seri konsentrasi Asam Galat 59
16. Lamda Maksimum Asam Galat 60
17. Kurva Baku Standar Pembanding Asam Galat 61
18. Perhitungan pembuatan larutan Follin-Ciocalteu 62
19. Pembuatan Larutan Follin-Ciocalteu 63
20. Perhitungan pembuatan larutan NaOH 1% 64
21. Pembuatan Larutan NaOH 1% 65
22. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Etanol 95% dan Replikasinya 66
23. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 95% 67
24. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Fraksi n-heksana dan Replikasinya 68

25. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak 69
26. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Fraksi Etil Asetat dan Replikasinya 70
27. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak 71
28. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Fraksi Etanol-Air dan Replikasinya 72
29. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak 73
30. Perhitungan Persamaan Garis Regresi Linier 74
31. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut 75
32. Perhitungan Kadar Fenolik Esktrak Etanol 95 % dan Perhitungan standar deviasi Kadar Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut 76
33. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Fraksi N-heksana Madu Kelulut 77
34. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi n-heksana dan Perhitungan standar deviasi Kadar Fraksi N-heksana 78
35. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 79
36. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi Etil Asetat dan Perhitungan standar deviasi Kadar Fraksi Etil Asetat 80
37. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Fraksi Etanol-Air Madu Kelulut..... 81
38. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi Etanol-Air dan Perhitungan standar deviasi Kadar Fraksi Etanol-Air 82
39. Hasil Uji Normalitas (Uji liliefors) 83
40. Hasil Uji Homogenitas (Levene's)..... 84
41. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* 85

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati baik tumbuhan maupun hewannya (Ayuchecaria *et al*., 2020). Salah satu hewan yang dikenal memiliki manfaat untuk manusia adalah lebah madu. Lebah madu merupakan salah satu serangga sosial yang hidup berkoloni yang menghasilkan madu, selain itu lebah juga menghasilkan propolis, serbuk sari (*pollen*), royal jelly, bisa lebah (*bee venom*), lilin lebah (*bee wax*), roti lebah (*bee bread*) dan madu granulasi (Wibowo *et al*., 2016). Lebah terbagi menjadi 2 jenis yaitu lebah bersengat dan lebah tak bersengat (Zahra *et al*., 2021).

Madu kelulut merupakan madu yang berasal dari lebah tanpa sengat. Lebah mengumpulkan nektar dari bunga tanaman, kemudian diubah melalui kombinasi enzim sebagai sekresi saliva (Sivasakthi, 2018). Menurut SNI (2018) madu lebah tanpa sengat merupakan cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah tanpa sengat baik liar maupun budidaya dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral). Pada penelitian terdahulu madu memiliki manfaat dengan berbagai aktivitas biologis sebagai antibakteri, antiinflamasi, antidiabetes, penyembuh luka, antikanker, dan imunomodulator (Zahra *et al*., 2021). Budidaya lebah kelulut telah berkembang di berbagai wilayah termasuk Kecamatan Loa Janan Ilir, Kota Samarinda yang memiliki potensi besar dalam mendukung produksi madu kelulut berkualitas.

Kualitas madu kelulut akan berpengaruh pada senyawa yang terkandung pada simplisia dan membutuhkan metode yang tepat untuk menarik senyawa tersebut, salah satunya adalah proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan untuk menarik senyawa kimia dari sampel. Pada penelitian ini, ekstraksi madu kelulut dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 95%. Metode maserasi dipilih karena sederhana, tanpa pemanasan, dan dapat mengurangi kerusakan senyawa kimia (Hasanah *et al*., 2024).

Hasil ekstraksi kemudian dimurnikan melalui proses fraksinasi. Fraksinasi merupakan proses pemisahan untuk menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan, sehingga fraksi yang dihasilkan lebih murni dibandingkan ekstrak. Pada penelitian ini pelarut n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan etanol-air (polar) digunakan dalam fraksinasi. Senyawa metabolit sekunder yang akan dianalisis kadarnya adalah senyawa fenolik.

Senyawa fenolik merupakan senyawa kimia dengan ikatan rangkap terkonjungsi dan gugus kromofor dan juga mengandung gugus hidroksil dan cincin aromatik. Senyawa fenolik pada madu kelulut adalah kelompok senyawa alami yang memiliki sifat antioksidan, yang dapat ditentukan kadarnya menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible (Ayuchecaria *et al*., 2020). Reagen yang digunakan untuk mengukur kadar fenolik adalah reagen Folin-Ciocalteu, dengan asam galat sebagai pembanding (Bachtiar *et al*., 2023). Metode ini umum digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total, yang dinyatakan dalam massa ekivalen asam galat (Rollando *et al*., 2021). Menurut Viranda (2009) asam galat merupakan turunan asam hidroksibenzoat, yang termasuk dalam asam fenolik sederhana. Kadar fenol dihitung menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, yang bekerja pada prinsip penyerapan gelombang cahaya atau radiasi yang dilewatkan pada suatu larutan, maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan (Bachtiar *et al*., 2023).

Pada penelitian sebelumnya Zahra *et al*., (2021) ekstrak madu *Trigona sp.* asal Lombok Utara memiliki kadar senyawa fenolik total sebesar 1,25±0,08 mg GAE/g, *Trigona sp.* asal Sulawesi Tengah sebesar 1,0096±0,1170 mg GAE/g, *Trigona sp.* asal Johor, Malaysia sebesar 0,04-0,1 mg GAE/g. Berdasarkan telaah literatur penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antiradikal bebas pada madu kelulut asal Lombok Utara dengan ekstrak etanol 75% dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan hasil nilai IC_{50} sebesar 1550 ± 0,02 µg/ml, namun pada penelitian tersebut tidak melakukan fraksinasi hanya sampai proses ekstraksi. Berdasarkan hal ini peneliti tertarik untuk melakukan penelitian penetapan kadar fenolik dengan ekstrak yang divariasikan menggunakan tiga fraksi (n-heksana, etil asetat dan etanol-air) sebagai perbandingan, menggunakan sampel madu kelulut

(*Heterotrigona itama*) yang dibudidaya di Kecamatan Loa Janan Ilir, Kota Samarinda dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu berapa kadar fenolik total ekstrak etanol madu kelulut (*Heterotrigona itama*) dan fraksinya (n-heksana, etil asetat dan etanol-air) hasil budidaya dari Kecamatan Loa Janan Ilir, Kota Samarinda dengan metode spektrofotometri UV-Vis ?

C. Hipotesis

Fraksi etil asetat memiliki kadar fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya.

D. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar fenolik total ekstrak etanol madu kelulut (*Heterotrigona itama*.) dan fraksinya (n-heksana, etil asetat dan etanol-air) hasil budidaya dari Kecamatan Loa Janan Ilir, Kota Samarinda dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

E. Manfaat Penelitian

1. Menambah wawasan penulis tentang analisis kadar fenolik total madu kelulut (*Heterotrigona itama*.) dengan fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol-air menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.
2. Hasil studi ini dapat dijadikan acuan untuk peneliti dan pengembangan selanjutnya yang akan melakukan penelitian tentang madu.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kandungan dari madu kelulut yang memiliki senyawa metabolit sekunder dan dapat dijadikan landasan masyarakat dalam mengaplikasikan madu sebagai obat herbal.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Gambaran Umum Madu

Madu merupakan zat makanan yang memiliki rasa manis dan berstruktur kental yang dibuat oleh lebah madu dan jenis lebah lainnya. Lebah menghasilkan madu dari nektar bunga atau dari sekresi serangga lain. Madu pada lebah biasanya disimpan dalam struktur lilin yang disebut sarang lebah yang terbuat dari campuran lilin dan resin, tergantung jenis lebahnya (Alhamdani *et al*., 2022). Menurut Gairola *et al*., (2013), madu merupakan bahan makanan yang kompleks yang diproduksi dari sarang lebah dan dapat digunakan manusia sebagai agen pemanis tanpa adanya proses pengolahan. Berbagai senyawa antara lain yaitu air, mineral (0,2%), karbohidrat dalam bentuk gula (terutama fruktosa 38,8% dan glukosa 30,3%), asam (0,5%), vitamin, protein (0,3%), enzim, bahan aromatik, polifenol, pigmen, lilin dan polen yang berkontribusi pada warna, aroma dan rasa (Hasan *et al*., 2020). Rasa keasaman pada madu tak terasa karena ditutupi oleh kandungan gula yang sangat besar, tetapi madu tetap tergolong sebagai makanan yang bersifat asam. Komposisi dan kualitas madu sangat beragam dan tergantung pada sumber nektar tumbuhan, lokasi, musim dan iklim, jenis pengolahan dan penyimpanan (Prabowo *et al*., 2019).

Madu banyak digunakan pada industri makanan, minuman farmasi, jamu dan kosmetik (Khabibi *et al*., 2022). Adapun manfaat dari mengkonsumsi madu trigona sangat baik untuk kesehatan seperti: menangkal radikal bebas, meningkatkan imunitas tubuh, menjaga kesehatan sistem pencernaan, menjaga kesehatan jantung, penyakit diabetes dan penyakit kronis lainnya (Putri, 2024).

Berdasarkan sumber bunga (nectar), madu dibedakan menjadi 2, yakni madu monofloral dan multifolar. Madu monofloral berasal dari satu jenis nectar atau didominasi oleh satu nectar. Madu multifloral adalah madu yang berasal dari berjenis-jenis tanaman, sebagai contoh madu hutan dari lebah yang mendapatkan nectar dari beberapa jenis tanaman (Supeno & Erwan, 2016). Kualitas madu dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti waktu pemanenan, kadar air, warna, rasa,

dan aroma. Madu yang berkualitas baik dipanen saat sudah matang dan sel-selnya ditutup oleh lebah. Kadar air yang ideal untuk madu berkisar antara 17-21%, warna madu menunjukkan kualitasnya dan dipengaruhi oleh sumber nektar tanaman. Rasa dan aroma madu berasal dari senyawa seperti glukosa, alkaloid, asam glukonat, dan prolin. Aroma pada madu akan berkurang jika madu disimpan terlalu lama (Savitri *et al*., 2019)

Madu memiliki kegunaan fungsional sebagai pemanis makanan yang baik dan memberikan efek pengobatan yang tinggi terutama pada kesehatan manusia (Ya'akob *et al*., 2019). Madu dipercaya memiliki banyak manfaat di dunia kedokteran seperti efek antimikroba yang dapat menyembuhkan luka dan jerawat, antiseptik, anti-inflamasi dan dapat bertindak sebagai *covering agent*. Madu sebagai bahan alami dapat digunakan sebagai pelembap karena memiliki sifat humektan, emolien dan antioksidan (Sinulingga *et al*., 2018).

1. Madu Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*)

Madu kelulut adalah salah satu bahan alam yang diperoleh dari lebah kelulut (Afriliah *et al*., 2022). Madu kelulut mengandung berbagai vitamin dan mineral seperti vitamin C, vitamin B kompleks, kalsium, magnesium, dan kalium. kandungan zat fenolik yang tinggi menyebabkan madu kelulut berpotensi sebagai antibakteri, anti-inflamasi dan antioksidan (Rahmiati *et al*., 2023).

Madu kelulut berbeda dari madu lebah biasa, dengan karakteristik seperti tekstur encer dan kadar air tinggi (hingga 30%), rasa asam yang tercampur pollen dan asam amino, mengambil nektar dari berbagai jenis bunga karena ukurannya yang kecil, serta kaya akan antimikrobia dan antioksidan (Putri, 2024).

2. Khasiat Madu Kelulut

Menurut Rahmiati *et al*., (2023), kandungan bioaktif madu kelulut sebagai antibakteri, antioksidan, dan anti-inflmasi. Berdasarkan literatur yang dianalisis diketahui bahwa madu kelulut diketahui mengandung berbagai kandungan bioaktif yang memberikan manfaat kesehatan. Beberapa kandungan bioaktif yang umum ditemukan dalam madu kelulut meliputi:

a. Flavonoid : Madu kelulut kaya akan flavonoid, yang merupakan senyawa tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Flavonoid dapat membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas.
b. Asam fenolat: Madu kelulut mengandung asam fenolat, seperti asam kafeat dan asam p-kumarat. Asam fenolat memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi yang dapat membantu melawan stres oksidatif dan peradangan dalam tubuh.
c. Enzim: Madu kelulut mengandung berbagai enzim, seperti enzim glukosa oksidase, katalase, dan peroksidase. Enzim - enzim ini memiliki peran penting dalam memecah senyawa oksigen aktif dan memperkuat aktivitas antioksidan madu.
d. Asam amino: Madu kelulut mengandung berbagai asam amino esensial dan non- esensial yang penting untuk pemeliharaan dan pertumbuhan sel-sel tubuh. Asam amino juga berperan dalam memperkuat sistem kekebalan tubuh.
e. Vitamin dan mineral: Madu kelulut mengandung berbagai vitamin dan mineral seperti vitamin C, vitamin B kompleks, kalsium, magnesium, dan kalium. Vitamin dan mineral ini penting untuk menjaga kesehatan tubuh secara keseluruhan.
f. Madu kelulut sebagai penyembuh luka, efek ini disebabkan oleh kandungan zat fenolik dan flavonoid yang jauh lebih tinggi dalam madu kelulut (Rosli *et al*., 2023).

3. Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*)



Gambar 1. Lebah Kelulut (Dokumentasi Pribadi, 2025)

Lebah tanpa sengat (*Heterotrigona itama*) atau kelulut adalah kelompok lebah berukuran kecil. Lebah kelulut memiliki cara hidup eusosial, sama seperti lebah apis dan beberapa serangga lain seperti semut dan rayap. Eusosial adalah perilaku hidup bersama, dengan sistem pembagian kerja. Dalam sistem sosial lebah ada satu (atau terkadang lebih dari satu) ratu lebah, ratusan lebah jantan (drone), dan ratusan sampai ribuan lebah pekerja. Ratu berkelamin betina dan fertil. Tugas ratu adalah bertelur dan jadi pemimpin. Satu keluarga lebah ini disebut sebagai satu koloni.

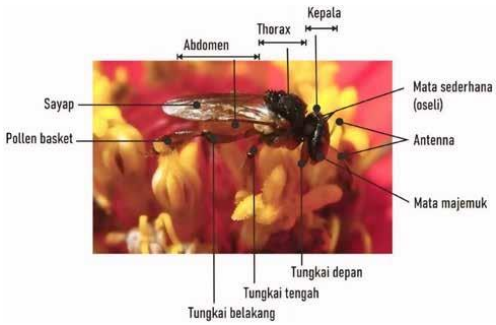
Lebah tanpa sengat menyimpan madu dalam kantong-kantong yang terbuat dari getah tanaman/resin, biasa disebut pot madu. Sumber getah bervariasi, dan akan menentukan karakteristik dari madu, terutama dalam hal aroma. Lebah yang jamak dikenal sebagai trigona ini merupakan kelompok lebah generalis, artinya mereka mengambil nektar sebagai bahan madu dari berbagai jenis tanaman berbunga (Supeno & Erwan, 2016).

4. Taksonomi Lebah Kelulut

Menurut Putri (2024) taksonomi lebah kelulut adalah sebagai berikut :

Kingdom / Kerajaan : Animalia
Filum / Divis : Arthropoda
Kelas / Clasis : Insecta
Bangsa / Ordo : Hymenoptera
Suku / Familia : Apidae
Marga / Genus : Meliponini
Species / Jenis : Geniotrigona, Heterotrigona, Lepidotrigona, Tetragonula.

5. Morfologi Lebah Kelulut



Gambar 2. Morfologi Lebah Kelulut (Putri, 2024)

Ciri – ciri lebah tanpa sengat antara lain tubuhnya terbagi dalam tiga bagian meliputi kepala, dada (thorax), dan abdomen. Pada bagia thorax dapat dijumpai dua pasang sayap dan tiga pasang tangkai. Khusus pada tungkai belakang dilengkapi dengan pollen basket/ keranjang serbuk sari (*corbicula*). Dibagian kepala terdapat sepasang mata majemuk dan 3 mata sederhana (*oseli*). Sepasang atenna menjadi organ peraba, berada didekat mata (Putri, 2024).

6. Produk Hasil Lebah

Menurut Rompas *et al*., (2023) produk hasil lebah sebagai berikut :

a. Madu

   Madu adalah cairan alami yang umumnya memiliki rasa manis, dihasilkan oleh lebah madu, dari sari bunga tanaman atau dari tanaman nektar yang berkhasiat dan bergizi tinggi.

b. Propolis

   Propolis atau lem lebah adalah nama generik yang diberikan untuk bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai macam jenis tumbuhan. Pada umumnya propolis memiliki kandungan zat dan nutrisi yang mirip dengan madu, sehingga baik digunakan untuk kesehatan dan kecantikan.

c. Tepung Sari (*bee pollen*)

   Bee Pollen adalah serbuk sari bunga yang sudah diolah oleh lebah sebagai makanannya. Bagi lebah, *bee pollen* berfungsi sebagai bahan pembentuk, pertumbuhan dan penggantian sel yang rusak.

d. Royal Jelly

Royal jelly merupakan salah satu jenis makanan alami yang baik dengan kandungan nutrisi yang sangat kompleks.

e. Lilin Lebah (*bee wax*)

Lilin lebah (*bee wax*) disekresikan oleh kelenjar lilin yang terdapat pada bagian bawah dari perut (abdomen) lebah pekerja.

f. Racun Lebah (*bee venom*)

Racun lebah (apitoxin) dihasilkan dari lebah pekerja. Apitoxin disekresikan oleh kelenjar racun dalam bentuk cairan bening dengan bau tajam, rasanya pahit dan pedas, aromanya spesifik serta cepat kering.

B. Kandungan Fitokimia Madu Kelulut

Skrining fitokimia adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder pada bahan alam. Tahapan awal ini bertujuan memberikan informasi mengenai keberadaan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan dianalisis (Vifta & Advistasari, 2018).

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa organik non-esensial, turunan dari metabolit primer yang terdapat di dalam tubuh organisme dalam jumlah dan kadar yang sedikit (Astuti & Respatie, 2022). Adapun senyawa yang tergolong dalam metabolit sekunder adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin dan terpenoid (Nabillah & Chatri, 2024).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder dengan berbagai struktur dan aktivitas biologis penting. Senyawa ini mengandung nitrogen dalam strukturnya, dengan unsur penyusun karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri dengan cara mengganggu pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri, yang menyebabkan kematian sel (Nabillah & Chatri, 2024).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder dari kelompok fenol yang memiliki struktur benzen dengan gugus OH. Sebagai polifenol, flavonoid diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia dan biosintesisnya, dengan kerangka dasar 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena (C_6) yang terhubung oleh

rantai propana (C_3). Flavonoid memiliki berbagai bentuk seperti isoflavon, flavonol, flavon, dan flavanon, serta memiliki efek farmakologi sebagai antioksidan, antipenuaan, anti-inflamasi, dan anti-virus (Ningsih & Advinda, 2023).

3. Fenolik

Senyawa fenolik adalah kelompok metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan memiliki rumus kimia umum berupa C_6H_6O (fenol sederhana), di mana terdapat cincin benzena (C_6H_6) dengan satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon pada cincin tersebut. Senyawa ini dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respons terhadap stres lingkungan, seperti infeksi patogen, radiasi UV, atau serangan herbivora. Senyawa fenolik pada madu umumnya berasal dari sumber nektar tanaman dan proses metabolisme lebah. Contoh senyawa fenolik pada madu :

a) Flavonoid: Misalnya quercetin, kaempferol, apigenin, dan pinocembrin, sebagai antioksidan kuat dan berperan dalam melawan radikal bebas.
b) Asam Fenolat: Seperti asam kafeat, asam ferulat, dan asam galat, yang memiliki efek antiinflamasi dan antimikroba.
c) Tanam Polifenol Lain: Misalnya asam sinamat dan asam klorogenat, yang juga memiliki aktivitas antioksidan.

4. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol aktif metabolit sekunder dengan khasiat sebagai astringen, anti-diare, antibakteri, dan antioksidan (Makatambah *et al*., 2020). Senyawa ini memiliki berat molekul yang tinggi dan terdiri dari gugus hidroksil serta karboksil, sehingga mampu membentuk ikatan silang dengan molekul lain seperti protein, polisakarida, dan asam nukleat. Tanin, yang memiliki rumus molekul $C_{77}H_{52}O_{46}$, umumnya berwarna kuning atau putih mengkilap dengan aroma dan rasa khas. Senyawa ini berguna untuk menghentikan pendarahan, mengobati luka bakar, serta melindungi luka dan ginjal (Suhaila *et al*., 2024).

1. Steroid

Steroid merupakan kelompok triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantrena, yang tersusun dari tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Steroid memiliki peran penting dalam menjaga

keseimbangan garam, mengatur proses metabolisme, meningkatkan fungsi organ reproduksi, serta mendukung berbagai aktivitas biologis (Nola *et al*., 2021). Tubuh manusia secara alami memproduksi steroid untuk mendukung berbagai proses metabolisme (Nasrudin, 2017).

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat tradisional, yang dalam prakteknya belum mengalami pengolahan lebih lanjut kecuali proses pengeringan. Untuk memenuhi persyaratan mutu minimum, beberapa faktor perlu diperhatikan diantaranya adalah bahan baku simplisia, proses pembuatan dan cara penyimpanan bahan baku, serta cara pengemasan dan penyimpanan produk simplisia (Lubena *et al*., 2022).

Simplisia dibagi menjadi tiga golongan berdasarkan asal bahan bakunya yaitu:

1. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya.
2. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan. Contohnya adalah minyak ikan dan madu.
3. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana. Contohnya serbuk seng, serbuk tembaga, dan kaolin (Maslahah, 2024).

D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda (Jonathan *et al*., 2024). Ekstraksi secara hewani adalah proses pengambilan zat aktif atau senyawa tertentu dari jaringan hewan atau produk asal hewan untuk digunakan dalam berbagai keperluan, seperti obat-obatan, kosmetik, atau penelitian biomedis (Kumar *et al*., 2015).

Menurut Sarker *et al*., (2006), target ekstraksi harus ditentukan terlebih dahulu, seperti senyawa bioaktif yang belum diketahui, senyawa spesifik dalam organisme, atau sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang memiliki keterkaitan struktural.

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV disebutkan bahwa ekstrak merupakan sediaan kental yang didapatkan dengan proses pengekstraksian senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan karakter simplisia tersebut, kemudian hampir semua atau semua pelarut diuapkan, sedangkan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditentukan.

Menurut (Voight, 1995) ekstrak dikelompokan menjadi 3 golongan :

1. Ekstrak kental (Extractum spissum) sediaan dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang dan kandungan airnya berjumlah hingga 5%-30%.
2. Ekstrak kering (Extractum siccum) konsentrasi kering dan mudah digosok jika melalui penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk yang sebaiknya memiliki kandungan lembab lebih dari 5%.
3. Ekstrak cair (Extractum fluidum) sediaan cair simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau pengawet. Kandungan air lebih dari 30%.

E. Maserasi

Metode ekstraksi dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu cara dingin diantaranya adalah maserasi dan perkolasi. Kelompok lainnya adalah cara panas diantaranya refluks, sokhletasi, digesti, infundasi (Athaillah *et al*., 2024). Metode ekstraksi yang umum dilakukan adalah metode maserasi, dimana maserasi dilakukan dengan memasukkan simplisia dan pelarut tertentu yang melibatkan beberapa tahap perendaman dan pengadukan lalu dimasukkan kedalam suatu wadah yang ditutup rapat dalam suhu kamar. Maserasi adalah metode ekstraksi yang sederhana dan umum digunakan baik untuk skala kecil maupun industri. Proses ekstraksi dapat

dihentikan saat konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman setimbang (Jonathan *et al*., 2024).

F. Fraksinasi

Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan tiga pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi menggunakan pelarut berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut (Pratiwi *et al*., 2016).

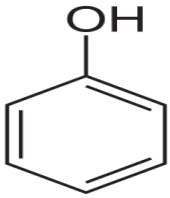
Metode fraksinasi pada umunya dijadikan acuan dalam pendugaan sifat kepolaran suatu senyawa yang akan dipisahkan (senyawa target). Berdasarkan hal tersebut metode fraksinasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, sebab dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolaran karena senyawa yang bersifat polar larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa semi polar larut dalam pelarut semi polar dan senyawa non polar larut dalam pelarut non polar. Pemilihan pelarut pada fraksinasi bergantung pada sifat analitnya dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, karena metode fraksinasi merupakan suatu prosedur pemisahan antara suatu senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Proses fraksinasi pada penelitian ini menggunakan pelarut n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan etanol-air (polar) (Putri *et al*., 2022).

G. Uji Kadar Fenolik

1. Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan zat yang mengandung fenol (hidroksibenzena) dalam strukturnya, terikat pada struktur aromatik (struktur siklik tak jenuh) atau struktur alifatik (struktur bercabang yang tidak membentuk cincin). Senyawa fenolik dianggap sebagai kelompok utama metabolit sekunder dari tumbuhan, dan keberadaan senyawa fenolik pada hewan tergantung pada makanan yang dikonsumsi baik tumbuhan atau sumber makanan lain yang mengandung senyawa tersebut. Bersadarkan hal ini, madu mengandung senyawa fenolik karena selama

produksinya lebah mencampur cairan tubuhnya dengan nektar bunga atau sekresi tanaman yang terdiri dari air, gula, protein, dan senyawa fenolik (sanchez *et al*., 2021).



Gambar 3. Stuktur Fenolik (Emelda, 2023)

2. Pereaksi Senyawa Fenolik

a) Folin-Ciocalteu

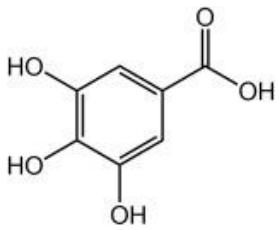
Analisis kadar fenolik dilakukan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, merupakan reagen yang paling umum digunakan karena proses pengujiannya yang cukup sederhana. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik dapat mereduksi asam fosmolibdat – fosfotungstat dari reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molibdenum-tungstat (Mo-W) berwarna biru. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik yang terkandung didalam sampel, maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Zahra *et al*., 2021).

b) NaOH 1%

Dalam penetapan kadar fenolik, NaOH 1% dapat berperan sebagai larutan pengendap atau untuk mengubah senyawa fenolik yang larut dalam air menjadi bentuk yang dapat lebih mudah diukur.

c) Asam galat

Menurut Diniyah (2020) asam galat digunakan sebagai larutan pembanding karena senyawa ini sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reaksi reagen Folin-Ciocalteu, hal tersebut dikarenakan asam galat memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi pada masing-masing cincin benzene (Rahmah *et al*., 2022).

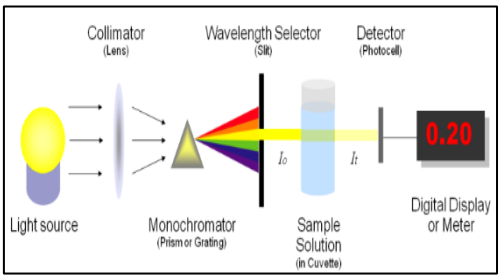


Gambar 4. Struktur Asam Galat (Karas *et al*., 2017)

H. Spektrofometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode yang sangat populer sering digunakan di laboratorium kimia analisis, karena tergolong mudah dan cepat jika dibandingkan dengan metode lain. Misalnya untuk menentukan konsentrasi suatu senyawa atau metode spektrofotometri campuran prinsip dasar UV-Vis adalah absorbansi. Sedangkan spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur daya serap suatu cairan yang memiliki gugus-gugus kromofor dan gugus ausokrom pada panjang gelombang cahaya tertentu (Hidayah *et al*., 2024). Spektrofotometer UV-Visible digunakan untuk mengukur serapan menggunakan cahaya dengan kisaran ultraviolet (200-400 nm) dan kisaran cahaya visible (terlihat) (400-800 nm) (Dachriyanus, 2004).

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa hubungan linieritas antara absorban (besarnya sinar radiasi yang terserap oleh zat) dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan (besarnya sinar radiasi yang melewati zat dan ditangkap detektor) (Agustin *et al*., 2020).



Gambar 5. Prinsip kerja alat spektrofometer UV-Vis (Mubarok, 2021)

1. Keuntungan Spektrofotometri UV-Vis
    a. Sensitivitas : Spektrofotometri UV-Vis memiliki sensitivitas yang tinggi untuk mengukur konsentrasi zat dalam larutan pada tingkat mikro hingga nanomolar.
    b. Non-destruktif : Teknik ini umumnya non-destruktif terhadap sampel, sehingga memungkinkan analisis lebih lanjut menggunakan teknik lain.
    c. Cepat dan Murah : Analisis dengan spektrofotometri UV-Vis dapat dilakukan dengan cepat dan tidak memerlukan bahan kimia yang mahal.
    d. Multipel Aplikasi : Dapat digunakan dalam berbagai bidang ilmu untuk berbagai jenis analisis.
2. Keterbatasan Spektrofotometri UV-Vis
    a. Interferensi Spektral : Interferensi dari zat lain yang menyerap pada panjang gelombang yang sama dapat mempengaruhi akurasi pengukuran.
    b. Keterbatasan Panjang Gelombang : Hanya dapat mengukur absorbansi dalam rentang panjang gelombang UV dan tampak. Zat yang menyerap di luar rentang ini tidak dapat dianalisis.
    c. Kebutuhan Purifikasi Sampel : Dalam beberapa kasus, sampel harus dimurnikan terlebih dahulu untuk menghindari gangguan dari bahan pengotor.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik Total madu kelulut *(Heterotrigona itama)* dengan reagen Folin-Ciocalteu dan pembanding asam galat dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Tahapan penelitian meliputi determinasi hewan, pengumpulan bahan baku, pembuatan simplisia, ekstraksi madu kelulut, fraksinasi pelarut n-heksana, etil asetat & etanol-air, skrining fitokimia, penetapan kadar fenolik. Penelitian dilakukan pada April-Juni 2025 di Laboratorium Kimia Analisis Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda.

B. Objek Penelitian

Objek Penelitian ini adalah kadar fenolik total madu kelulut *(Heterotrigona itama)* dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

C. Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang digunakan adalah madu kelulut yang diperoleh di pembudidayaan madu kelulut di daerah Loa Janan Ilir, Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Teknik pengambilan sampel yaitu dilakukan secara *purposive sampling* dengan menggunakan kriteria yang dipilih oleh peneliti yaitu berupa madu lebah kelulut. Sampel madu lebah kelulut yang dipilih yaitu madu yang berwarna hitam serta memiliki rasa agak asam.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

   Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menyebabkan terjadinya perubahan. Pada penelitian ini variabel bebasnya adalah esktrak madu kelulut *(Heterotrigona itama)* dengan variasi pelarutnya adalah n-heksana, etil asetat dan etanol-air.

2. Variabel terikat

   Variabel terikat adalah faktor-faktor yang diamati dan diukur dalam sebuah penelitian, untuk menentukan ada tidaknya pengaruh dari variabel bebas. Variabelterikat dalam penelitian ini adalah kadar fenolik total madu kelulut

(Heterotrigona itama).

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang diupayakan untuk dinetralisasi oleh peneliti dalam sebuah penelitian. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah larutan asam galat, reagen Folin-Ciocalteau dan Spektrofotometri UV-Vis.

E. Definisi Operasional

1. Madu kelulut

Madu kelulut adalah madu yang dihasilkan oleh lebah tanpa sengat, atau lebah kelulut (*Heterotrigona itama*). Lebah madu kelulut ini di budidayakan di daerah Loa Janan Ilir, Kota Samarinda, Kalimantan Timur, yang akan digunakan pada sampel uji kadar fenolik total.

2 Simplisia madu kelulut

Pengumpulan simplisia dilakukan di tempat budidaya madu kelulut didaerah Loa Janan Ilir, Kota Samarinda, Kalimantan Timur.

3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan komponen atau zat aktif. Ekstraksi yang dilakukan dengan cara ekstraksi dingin yaitu maserasi menggunakan etanol 95 %.

4 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa menjadi lebih murni. Fraksinasi dilakukan dengan cara bertingkat dengan menggunakan tiga pelarut yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol-air.

5 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia adalah salah satu cara yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder. Skrining fitokimia dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid dalam madu lebah kelulut.

6 Penetapan kadar fenolik

Penetapan kadar fenolik dilakukan menggunakan reagen Folin-ciocalteu dengan pembanding asam galat.

7. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofometri UV-Vis merupakan metode analisis yang digunakan untuk menentukan jumlah kadar fenolik pada madu kelulut.

F. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

   a. Alat

   Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aluminium foil, batang pengaduk, bluetip, cawan porselen, corong kaca, corong pisah, gelas kimia, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 500 ml, kaca arloji, kertas saring whatman No. 41, labu ukur 5 ml, labu ukur 10 ml, labu ukur 25 ml, labu ukur 100 ml, *magnetic stirer*, mikropipet 100, mikropipet 1.000, pipet tetes, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, *waterbath*, yellow tip.

   b. Bahan

   Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah madu kelulut yang diperoleh di pembudidayaan madu kelulut daerah Loa Janan Ilir Samarinda, amil alkohol, aquadest, asam galat, asam klorida (HCl) pekat, asam klorida (HCl) 2N, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, besi III klorida ($FeCl_3$) 5%, etanol 95 %, etil asetat, kalium hidroksida (KOH), magnesium sulfat ($MgSO_4$), natrium klorida (NaCl), natrium hidroksida (NaOH), n-heksana, perekasi mayer, perekasi bouchardat, pereaksi dragendorff.

2. Prosedur Penelitian

   a. Determinasi Hewan

   Determinasi hewan bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengelompokkan hewan ke dalam taksonomi berdasarkan ciri-ciri khasnya, untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan sampel. Determinasi ini dilakukan di Laboratorium Budidaya Hutan (Sub. Laboratorium Perlindungan Hutan) Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Kota Samarinda.

   b. Pengumpulan Bahan Baku

   Sampel yang diambil adalah madu kelulut dari tempat pembudidayaan di daerah Loa Janan Ilir, Kota Samarinda, Kalimantan

Timur.

c. Pengolahan Simplisia

Pengumpulan bahan baku dilakukan dengan cara penyedotan madu dari sarangnya, kemudian madu ditimbang dan disaring. Selanjutnya ditimbang kembali untuk mendapatkan cairan madu murni. Lalu madu disimpan dalam wadah kaca serta terhindar dari sinar matahari langsung (Afriliah *et al*., 2022).

d. Ekstraksi

Sejumlah 100 g sampel madu kelulut diambil dan ditambahkan 1000 mL etanol 95% diaduk dengan *magnetic stirer* selama 30 menit, setelah itu disaring menggunakan kertas saring Whatman No.41, lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, setelah itu dipekatkan diatas *waterbath* hingga diperoleh esktrak kental dan dihitung rendemennya (Nugroho & Wahidin 2024).

$$\%\ Rendemen = \frac{bobot\ ekstrak\ (g)}{bobot\ simplisia\ yang\ diesktrak\ (g)} x100\ \%$$

e. Fraksinasi

Ekstrak etanol ditimbang sebanyak 50 g lalu dilarutkan kedalam etanol-air air sebanyak 75 ml dalam corong pisah. Ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 25 ml. Digojok kemudian didiamkan sampai terbentuk dua fase ditampung dalam gelas kimia terpisah. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (Rakhmat *et al.*, 2020).

Filtrat etanol hasil fraksinasi tersebut ditambahkan kembali dengan etil asetat sebanyak 25 ml. Digojok kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 fase. Proses fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah terpisah, masing-masing filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat dan ekstrak etanol-air (Zulfa *et al*., 2022). Masing-masing ekstrak hasil fraksinasi kemudian dihitung rendemennya menggunakan rumus yang sama seperti pada butir d.

f. Skrining Fitokimia

Ekstrak kental ditimbang masing-masing sebanyak 1 gram lalu

dilarutkan dengan etanol 95% sebanyak 10 ml di dalam labu ukur 100 ml hingga larut sempurna, lalu cukupkan volumenya dengan etanol 95% hingga 100 ml.

1. Uji Flavonoid

Diambil sebanyak 10 tetes ekstrak madu kelulut ditambahkan dengan 10 ml air panas, kemudian didihkan campuran selama 5 menit dan disaring. Sebanyak 5 ml filtrat yang didapat ditambahkan 0,1 gram serbuk $MgSO_4$, 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol lalu digojok dan dibiarkan memisah. Positif mengandung flavonoid jika menghasilkan warna kuning, orange dan merah, jingga pada lapisan amil alkohol (Marjoni & Saifuddin, 2022).

2. Uji Alkaloid

Diambil sebanyak 10 tetes ekstrak madu kelulut ditambahkan 1 ml (HCl) asam klorida 2N dan 9 ml aquades, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut :

a) Sampel diambil sebanyak 3 tetes lalu ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, filtrat akan menghasilkan endapan putih /kuning.
b) Sampel diambil sebanyak 3 tetes lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, filtrat menghasilkan endapan coklat-hitam.
c) Sampel diambil sebanyak 3 tetes lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff, filtrat menghasilkan endapan merah bata (Marjoni & Saifuddin, 2022).

3. Uji Fenol

Diambil sampel sebanyak 2 mL lalu ditambahkan besi klorida 5% ($FeCl_3$) yang dilarutkan menggunakan 10 ml aquades. Terbentuknya warna biru menandakan adanya komponen fenol pada ekstrak sampel (Utami *et al*., 2024).

4. Uji Steroid

Diambil sebanyak 10 tetes ekstrak madu kelulut ditambahkan larutan asetat anhidrat sebanyak 3 tetes dan 1 tetes H_2SO_4 pekat. Adanya senyawa golongan terpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah, sedangkan adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna biru (Rumagit *et al.*, 2020).

g. Penetapan Fenolik Total

1. Pembuatan larutan uji untuk sampel

Ditimbang masing-masing sampel esktrak etanol 95% dan fraksinya sebanyak 0,2 g dilarutkan dengan etanol 95% didalam gelas kimia, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dicukupkan volumenya dengan etanol 95% hingga tanda batas kemudian larutan dihomogenkan. Didapatkan larutan uji sampel dengan konsentrasi 20.000 ppm.

2. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko dibuat dengan mengganti larutan standar dengan etanol 0,5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml. Ditambahkan 2,5 ml enceran Folin-Ciocalteu *LP* (7,5% dalam air). Lalu didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 2 ml NaOH 1 % sampai tanda batas. Setelah itu diinkubasi selama 1 jam.

3. Pembuatan larutan asam galat sebagai pembanding

Ditimbang 10 mg asam galat, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, lalu dilarutkan dengan etanol 95% ditambahkan sampai tanda batas. Sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 400 ppm. kemudian dibuat seri pengenceran larutan pembanding dengan kadar berturut – turut 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm.

4. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimal asam galat dilakukan dengan mengukur larutan asam galat konsentrasi 60 ppm pada range 600-800 nm dan ditentukan nilai panjang gelombang maksimum dengan nilai absorbansi tertinggi (Fitriana *et al.*, 2023).

5. Pembuatan kurva baku

Larutan seri asam galat yang telah dibuat seri masing-masing dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Setelah itu, dibuat kurva standar untuk memperoleh hubungan antara absorbansi dan konsentrasi dengan nilai koefisien (r) mendekati 1 (Zahra *et al*., 2021).

$$y = bx + a$$

Keterangan :
y = Nilai Absorbansi
x = Kadar Fenolik Total (konsentrasi)
a = Intercept (perpotongan garis)
b = Slope (kemiringan)

6. Penetapan Kadar Fenolik Total

Masing – masing 0,5 ml larutan uji dan masing –masing seri larutan asam galat dimasukkan ke labu ukur 5 ml, ditambahkan 2,5 ml enceran Folin-Ciocalteu *LP* (7,5% dalam air). Lalu didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 2 ml NaOH 1 %, inkubasi selama 1 jam. Diukur serapan masing–masing larutan pada panjang gelombang maksimum. Dilakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama, tanpa penambahan larutan uji. Dibuat kurva kalibrasi dan dihitung kadar larutan uji. Penetapan kadar fenolik total dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\textbf{Kadar fenolik total } (\textbf{mg}\frac{\textbf{GAE}}{\textbf{g}}) = \frac{\textbf{C} \,.\, \textbf{V}}{\textbf{m}}$$

Keterangan :
C = konsentrasi asam galat dari kurva kalibrasi (mg/l)
V = volume ekstrak (mL)
m = massa ekstrak (g)

G. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif diperoleh melalui skrinning fitokimia madu kelulut, sedangkan data kuantitatif diperoleh dari penetapan kadar senyawa fenolik pada madu kelulut. Dalam penelitian ini, dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan untuk memastikan bahwa data yang diperoleh homogen dan normal. Dalam menganalisis perbedaan lebih lanjut antara kelompok fraksi, dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Uji ini bertujuan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara empat kelompok uji yaitu eksktrak etanol madu kelulut, fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol-air yang diambil dari madu kelulut budidaya asal Kecamatan Loa Janan, Kota Samarinda.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Hewan dan Pengolahan Simplisia

Madu yang digunakan berasal dari lebah kelulut, yaitu jenis lebah yang tidak memiliki sengat. Determinasi hewan adalah proses ilmiah untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan suatu organisme secara akurat ke dalam kategori taksonomi yang benar, dengan tujuan utama memastikan identitasnya (Sayusti *et al*., 2021). Determinasi hewan dilakukan di Laboratorium Perlindungan Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda dengan hasil menyatakan bahwa madu yang digunakan adalah benar madu lebah kelulut dari spesies *Heterotrigona itama*, yang termasuk dalam famili *Apidae*. Hasil determinasi hewan ini dapat dilihat pada lampiran 2 dihalaman 43.

Pengolahan simplisia dimulai dengan mengambil sampel madu langsung dari lokasi pembudidayaan lebah kelulut di Kecamatan Tani Aman, Kecamatan Loa Janan Ilir, Kota Samarinda. Madu yang telah terkumpul kemudian disaring untuk menghilangkan kotoran atau benda asing sebelum masuk ke proses penelitian. Setelah disaring, madu ditimbang dan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat serta terlindungi dari paparan sinar matahari langsung.

B. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

Pada penelitian ini proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara ekstraksi dingin yaitu maserasi menggunakan etanol 95%. Maserasi terbukti efektif dalam mengekstrak senyawa bioaktif dari berbagai bahan alami. Meskipun sederhana, teknik ini mampu memberikan hasil optimal dengan mempertimbangkan faktor seperti jenis dan konsentrasi pelarut, suhu, waktu, serta rasio pelarut terhadap bahan. Pelarut polar seperti etanol 95% seringkali lebih efektif untuk mengekstrak senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidan dan antibakteri, karena memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar (Firdaus *et al*., 2024).

Pada proses maserasi ditimbang simplisia madu kelulut sebanyak 100 g didalam beaker glass 1000 ml dengan pelarut etanol 95% sebanyak 500 ml, kemudian dilarutkan dengan menggunakan *magnetic stirer* selama 30 menit tanpa suhu pemanasan. Larutan yang telah homogen dilakukan proses penyaringan menggunakan kertas saring pada corong untuk memisahkan filtrat dari residu secara menyeluruh. Hasil filtrat yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai mendapatkan ekstrak madu yang kental, kemudian dilanjutkan dengan penguapan diatas *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak madu yang pekat. Proses pembuatan ekstrak etanol 95% madu kelulut dapat dilihat pada lampiran 3 dihalaman 44.

Ekstrak pekat yang didapatkan kemudian ditimbang, disimpan dalam wadah tertutup kemudian diletakkan di *dry cabinet* agar tidak rusak. Setelah penimbangan, ekstrak dihitung dan hasil rendemen yang didapatkan adalah sebesar 58,25%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2000), Metode ekstraksi memiliki pengaruh signifikan terhadap persentase rendemen yang dihasilkan. Umumnya, nilai rendemen yang baik adalah di atas 10%. Azmin *et al.,* (2023) lebih lanjut menjelaskan bahwa bahan alam semi-cair seperti madu cenderung menghasilkan rendemen tinggi, yaitu lebih dari 50%. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa semi-polar terlarut dalam madu yang mudah terekstraksi oleh pelarut etanol. Nilai ini berbanding lurus dengan banyak nya ekstrak yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak ekstrak yang diperoleh (Batistuta, 2022). Perhitungan rendemen ekstrak etanol 95% madu kelulut dapat dilihat pada lampiran 4 di halaman 45.

C. Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Teknik ini umumnya menggunakan ekstraksi cair-cair dengan pelarut yang bervariasi polaritasnya. Prinsip dasarnya adalah "like dissolves like", yang berarti senyawa akan larut paling baik pada pelarut yang memiliki tingkat kepolaran serupa (Shina *et al*., 2024). Ekstrak etanol 95% madu kelulut difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol-air (polar).

Pada penelitian ini dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol 95% madu kelulut sebanyak 50 gram didalam beaker glass 500 ml, ditambahkan pelarut etanol-air sebanyak 75 ml kemudian dilarutkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit tanpa suhu pemanasan hingga homogen. Larutan etanol-air dicampur dengan 25 ml n-heksana di dalam corong pisah, Kemudian corong pisah digojok selama 5 menit , didiamkan selama 2 jam sampai terjadi pemisahan antara kedua fraksi yang ditandai dengan terbentuknya 2 lapisan yang tidak saling bercampur, terjadi karena perbedaan massa jenis kedua pelarut. Filtrat n-heksana ditampung ke dalam cawan porselen yang sudah diketahui bobot kosongnya. Penambahan pelarut yang sama dilakukan secara berulang dalam setiap tahapan pergantian pelarut Proses ini diulang 3 kali, bila tidak berwarna lagi disimpulkan bahwa tidak ada lagi senyawa yang berpindah atau terekstraksi (Furi *et al*., 2024). Selanjutnya, larutan etanol-air difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat dengan cara yang sama seperti fraksi n-heksana. Proses fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 5 dihalaman 46-47.

Pemisahan antara kedua fraksi yang ditandai dengan terbentuknya 2 lapisan yang tidak saling bercampur dimana fase yang diambil adalah lapisan pada bagian atas. Lapisan n-heksana dan etil asetat terdapat pada bagian atas karena massa jenisnya lebih kecil dibandingkan dengan etanol-air (Taufik *et al*., 2023). Hasil dari masing-masing pelarut akan dilakukan penguapan dengan *water bath* pada suhu 50°C sampai didapatkan fraksi kental n-heksana, etil asetat dan etanol-air kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya (Noviyanty *et al*., 2024). Tujuan dilakukan penguapan adalah untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kental. Oleh sebab itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan tergantung jenis pelarutnya (Makalunsenge *et al*., 2022). Perhitungan rendemen fraksi dapat dilihat pada lampiran 7 dihalaman 54 dan hasil perhitungan rendemen fraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rendemen Fraksi

No	Sampel	Rendemen (%)
1.	Fraksi n-heksana	20,90
2.	Fraksi Etil Asetat	28,40
3.	Fraksi Etanol-Air	42,98

Pelarut yang dimanfaatkan dalam penelitian ini memiliki spektrum polaritas yang bervariasi, mulai dari kategori polar, semipolar, hingga nonpolar. Secara spesifik, etanol diklasifikasikan sebagai pelarut polar dengan konstanta dielektrik 30, menunjukkan kemampuannya yang tinggi dalam melarutkan senyawa polar. Sementara itu, etil asetat dengan konstanta dielektrik 6 termasuk dalam golongan pelarut semipolar. Di sisi lain, n-heksana memiliki konstanta dielektrik terendah yaitu 1,89, sehingga menjadikannya pelarut non-polar. Pernyataan ini menegaskan prinsip bahwa nilai konstanta dielektrik yang lebih tinggi berbanding lurus dengan tingkat kepolaran suatu pelarut (Subandrate *et al.,* 2024).

D. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Madu Kelulut

Skrining fitokimia merupakan parameter untuk menentukan mutu simplisia. Tujuannya adalah mengidentifikasi senyawa kimia atau metabolit sekunder dalam simplisia, yang nantinya dapat digunakan untuk menentukan aktivitas biologi dari simplisia tersebut (Azis *et al*., 2024). Pada penelitian ini senyawa yang diuji meliputi alkaloid, fenolik, flavonoid, steroid/triterpenoid. Hasil skrining dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Madu Kelulut

No	Uji	Pereaksi	Teori	Hasil			
				Ekstrak Etanol 95%	Fraksi n-heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol Air
1.	Alkaloid	Mayer	Putih/Kuning	-	+	+	+
		Bouchardat	Coklat-Hitam	++	-	++	+
		Dragendorff	Merah Bata	++	++	+	-
2.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl Pekat + Amil Alkohol	Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol	+	-	++	-
3.	Fenol	FeCl 5% dalam 10 ml Alkohol	warna hijau kehitaman	-	-	-	-
4.	Triterpenoid	n-heksana + asam asetat anhidrat + H_2SO_4 pekat	Triterpenoid akan memberi perubahan warna merah	+	+	+	+

Keterangan :

(+) = Mengandung senyawa kimia

(++) = Mengandung senyawa kimia (intensitas warna lebih pekat)

(-) = Tidak mengandung senyawa kimia

Hasil positif (+) menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa kimia, yang ditandai dengan adanya perubahan warna, adanya endapan dan timbulnya busa. Sedangkan hasil (-) menunjukkan tidak adanya senyawa kimia, tidak adanya perubahan warna, tidak ada endapan dan tidak adanya busa yang timbul. Perubahan warna pada skrining fitokimia dapat dilihat dilampiran 8-11 dihalaman 51-54.

Pada tahap awal saat akan dilakukan uji skrining fitokimia masing-masing sampel esktrak etanol 95% dan fraksi dipreparasi, sampel ditimbang sebanyak 1 gram yang dilarutkan dengan 10 ml aquadest. Kemudian masing-masing sampel dipanaskan sebentar lalu disaring, ekstrak dan fraksi yang telah dipreparasi kemudian dilakukan uji alkaloid. Pada pengujian alkaloid masing-masing sampel dibuat didalam tiga tabung reaksi untuk diuji dengan tiga pereaksi yaitu Mayer, Dragendorff, dan Bouchardatt. Sama seperti data yang ada ditabel 2. Diperoleh dua reaksi positif dari tiga pereaksi yang diuji pada uji alkaloid. Dapat dikatakan ekstrak etanol 95% dan fraksinya mengandung Alkaloid sesuai dengan penelitian Utami *et al*., (2024) yang menyatakan madu kelulut positif mengandung alkaloid.

Pada pengujian flavonoid 10 tetes sampel madu ditambahkan dengan 10 ml air panas, lalu dicampur dan dididihkan 5 menit kemudian disaring. Hingga diperoleh 5 ml filtrat lalu dicampurkan dengan 0,1 mg serbuk Mg, 1 mL HCl pekat, dan 2 mL amil alkohol, lalu digojok dan dipisahkan. Kemunculan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Dari hasil uji flavonoid, hanya fraksi etil asetat yang menunjukkan hasil positif, sedangkan ekstrak etanol 95%, fraksi n-heksana, dan fraksi etanol-air menunjukkan hasil negative dengan tidak adanya perubahan warna maupun endapan. Menurut penelitian Wang *et al*., (2025) tidak terdeteksinya senyawa flavonoid dalam sampel dapat terjadi karena berbagai faktor, termasuk asal geografis, pengolahan, jenis sumber nektar, serta kondisi lingkungan seperti suhu

dan cuaca. Flavonoid memiliki polaritas sedang, yang cocok dengan polaritas etil asetat sebagai pelarut organik semi-polar. Ini memungkinkan etil asetat secara efektif melarutkan dan memisahkan banyak jenis flavonoid dari matriks madu yang lebih polar.

Pengujian senyawa fenolik dengan $FeCl_3$ akan menyebabkan warna hijau kehitaman dikarenakan adanya gugus fenol dalam ekstrak yang merupakan kelompok senyawa polifenol (Shina *et al*., 2024). Pada masing-masing sampel digunakan sebanyak 2 mL lalu ditambahkan besi klorida 5% yang dilarutkan menggunakan 10 ml akuades, didapatkan hasil dari semua sampel dinyatakan negatif karena tidak adanya perubahan warna hijau kehitaman maupun endapan pada sampel yang diuji. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan uji fenolik madu kelulut dengan $FeCl_3$ bisa negatif karena konsentrasi fenolik yang mungkin sangat rendah (di bawah batas deteksi), adanya zat lain dalam madu yang mengganggu reaksi, dan ketidaksesuaian pH. Hasil ini sejalan dengan penelitian Afrilliah *et al*., 2022 dan penelitian Utami *et al*., 2024 menyatakan bahwa senyawa fenolik negatif.

Pengujian steroid/triterpenoid masing-masing sampel digunakan sebanyak 10 tetes kemudian ditambahkan anhidrida asetat 3 tetes dan 1 tetes H_2SO_4 pekat, sampel dikatakan positif mengandung triterpenoid apabila mengalami perubahan warna merah atau cokelat dan positif mengandung steroid apabila mengalami perubahan warna biru, ungu atau hijau (Syamsul *et al*., 2022). Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perubahan warna biru, ungu, dan hijau untuk uji steroid yang berarti hasilnya negatif, sedangkan uji triterpenoid mengasilkan warna merah menunjukkan hasil positif. Hasil penelitian ini konsisten dengan penelitian Arung *et al*., (2023) yang juga menyatakan hasil negatif untuk senyawa steroid dan hasil positif untuk senyawa triterpenoid pada madu kelulut.

Madu kelulut sebagian besar adalah gula, dengan senyawa bioaktif lain dalam jumlah kecil. Oleh karena itu, senyawa steroid dari tumbuhan mungkin hanya sedikit (atau bahkan tidak ada) yang terkandung di dalamnya karena tidak banyak terbawa ke nektar atau resin yang diproses menjadi madu.

E. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak dan Fraksi Madu Kelulut Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer Ultra Violet-Visble (UV-Vis) merupakan salah satu instrumen analisis kimia, prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang dianalisis (Sulistyani *et al*., 2023). Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar fenolik total dari masing-masing sampel madu kelulut yaitu ekstrak etanol 95%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi etanol-air bertujuan untuk mengetahui berapa jumlah kadar fenolik totalnya.

Syarat suatu sampel dapat diuji dengan metode spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa harus memiliki gugus kromofor (gugus penyerap) agar bisa diuji dengan sinar ultraviolet, pada sampel madu kelulut mengandung senyawa fenolik yang secara alami mampu menyerap cahaya UV-Vis karena adanya gugus kromofor. Untuk mengukur total fenolik senyawa ini direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu dan NaOH hingga membentuk warna biru. Warna biru inilah yang diserap oleh Spektrofotometer UV-Vis sehingga dihasilkan nilai berupa absorbansi (Chan *et al*., 2023).

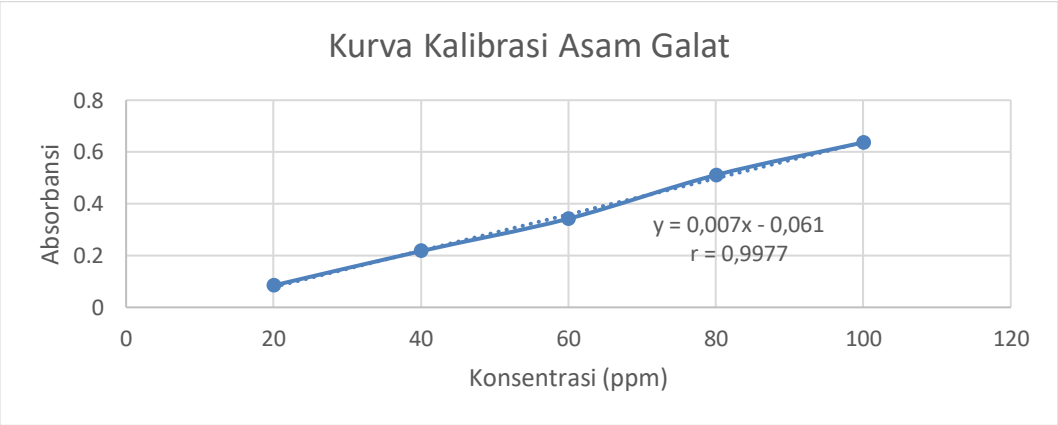
Pada tahap awal untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dilakukan pengukuran dengan larutan asam galat sebagai larutan pembanding penetapan kadar sampel. Dibuat larutan asam galat dengan konsentrasi 400 ppm, dengan seri pembanding yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dengan larutan seri masing-masing dipipet sebanyak 0,5 ml ke dalam labu uku 5 ml, lalu diinkubasi selama 1 jam dan di ukur panjang gelombang serapan maksimum pada range 400-800 nm dengan larutan seri tengah 60 ppm (Baturente *et al*., 2023). Alasan pengukuran dilakukan dengan panjang gelombang maksimum adalah untuk mendapatkan kepekaan maksimum, yaitu terpenuhinya hukum Lambert-Beer, dan jika pengukuran diulang maka kesalahan yang ditimbulkan oleh panjang gelombang akan kecil sekali (Chan *et al*., 2023). Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang maksimum 765,00 nm dengan absorbansi maksimum 0,5029. Sesuai dengan penelitian Baturente *et al*. (2023) dan Bonor *et al*. (2024)

yang menggunakan panjang gelombang maksimum 765,00 nm untuk asam galat. Selanjutnya, panjang gelombang maksimum tersebut digunakan pada analisis ekstrak etanol 95%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air dari madu kelulut.

Analisis larutan standar asam galat dilakukan untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang nantinya digunakan untuk menghitung kandungan total fenolik. Berdasarkan hasil analisis spektrofotometer UV-Vis, diperoleh data persamaan regresi linier asam galat yaitu y=0,0070x-0,0610 dengan koefisien korelasi (r) = 0,99768. Hubungan antara konsentrasi asam galat dan nilai serapan ditunjukkan oleh nilai r yang mendekati 1. Nilai absorbansi dapat dilihat pada tabel 3. dan pengukuran kurva baku standar dapat dilihat pada gambar 6.

Tabel 3. Nilai Absorbansi Larutan Standar Seri Asam Galat

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1.	20	0,0846
2.	40	0,2173
3.	60	0,3424
4.	80	0,5110
5.	100	0,6368



Gambar 6. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Seri Asam Galat

Selanjutnya dilakukan penetapan kadar fenol total dari ke empat sampel, dilakukan sebanyak 3 kali replikasi untuk memastikan data lebih akurat. Hasil

penetapan kadar fenolik total ekstrak dan fraksi madu kelulut dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4. Kadar Fenolik Ekstrak Etanol dan Fraksi Madu Kelulut

No.	Sampel	Rata-rata (mgGAE/g)±SD
1.	Ekstrak Etanol 95%	1,2958±0,1362
2.	Fraksi n-heksana	1,2535±0,0254
3.	Fraksi Etil Asetat	2,9765±0,0733
4.	Fraksi Etanol-Air	1,1712±0,0175

Berdasarkan nilai rata-rata, ekstrak fraksi etil asetat menunjukkan kadar fenolik total tertinggi, karena pelarut etil asetat bersifat semi polar yang efektif mengekstrak senyawa fenolik dibandingkan dengan pelarut non-polar dan pelarut polar (Maulida *et al*., 2025). Namun hasil ini tidak sejalan dengan pengujian fitokimia senyawa fenol dikarenakan hasil ujinya menunjukkan hasil negatif, kemungkinan bisa terjadinya hasil negatif karena pada uji fitokimia madu kelulut kurang sensitif terhadap senyawa fenolik yang rendah atau jenis tertentu. Namun, pada spektrofotometri UV-Vis berhasil mendeteksi adanya senyawa fenolik karena metode ini jauh lebih peka dan akurat.

Asam galat digunakan sebagai standar karena sifatnya yang sederhana, stabil, dan murni. Penggunaan NaOH 1% pada penentuan kadar fenolik berfungsi sebagai pembentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin-Ciocalteu oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam sampel (Putri *et al*., 2024). Prinsip dasar dari metode ini adalah pembentukan senyawa kompleks berwarna biru yang dihasilkan dari reaksi reduksi. Reagen Folin-Ciocalteu, yang mengandung asam heteropoli (fosfomolibdenum-fosfotungsten), akan tereduksi oleh senyawa fenolik menjadi kompleks molibdenum-tungsten biru yang kemudian dapat dideteksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Proses ini diawali dengan penambahan NaOH untuk membasakan larutan, yang memicu disosiasi proton dari senyawa fenolik, mengubahnya menjadi ion fenolik (Sujana *et al.,* 2022).

Hasil pengujian kadar fenolik total memperoleh nilai rata-rata yang dianalisis menggunakan metode *liliefors* untuk uji normalitas, metode *levene's*

untuk uji homogenitas, dan dilanjutkan dengan metode *Kruskal-Wallis* untuk uji signifikansi. Melalui uji normalitas *Liliefors*, ditemukan bahwa konsentrasi total fenolik pada keempat kelompok pengujian menunjukkan nilai data yang terdistribusi normal, dikarenakan nilai L.hitung yang lebih rendah dari L.tabel, mengindikasikan penerimaan hipotesis nol (H_0). Hasil uji homogenitas untuk kadar total fenolik mengungkapkan nilai p-value < 0,05, sehingga disimpulkan bahwa keempat kelompok pengujian tersebut memiliki varians yang tidak homogen.

Analisis data selanjutnya dilakukan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil dari uji ini menunjukkan perbedaan signifikan pada kadar total fenolik di antara ekstrak etanol 95%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air, yang terbukti dari nilai p-value 0,055 (p > 0,05). Ini menegaskan bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan di antara keempat kelompok perlakuan tersebut.

Pada penelitian ini awalnya menggunakan uji One Way Anova untuk membandingkan ke empat sampel yang berbeda, tetapi pada uji homogenitas hasil sampel menunjukkan tidak homogen yang artinya tidak memenuhi syarat untuk uji One Way Anova. Sebagai uji alternatif non-parametrik digunakan uji *Kruskal-Wallis* dimana uji ini tidak mengharuskan data berdistribusi normal atau varians yang homogen.

BAB V
PENUTUP

A. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar fenolik tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat, dengan nilai rata-rata sebesar (2,9765±0,0733) mgGAE/g. kemudian diikuti dengan ekstrak etanol 95% sebesar (1,2958±0,1362) mgGAE/g, fraksi n-heksana sebesar (1,2535±0,0254) mgGAE/g, dan fraksi etanol-air sebesar (1,1712±0,0175) mgGAE/g.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* , nilai signifikansi (Sig.) sebesar 0,055 ($p > 0,05$) menegaskan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata kadar fenolik yang signifikan di antara keempat kelompok perlakuan Ekstrak Etanol 95%, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Etanol-Air.

B. Saran

1. Madu kelulut terbukti memiliki banyak senyawa metabolit sekunder, sehingga peneliti selanjutnya perlu menguji aktivitas antioksidan dan juga dapat memanfaatkan serta mengembangkan produk farmasi lainnya.
2. Untuk masyarakat, madu kelulut ini juga membuka peluang ekonomi, karena pegembangannya sebagai produk lokal dapat memberikan berbagai manfaat untuk kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

Afriliah, N., Taurina, W., & Andrie, M. 2022. Karakterisasi Simplisia Madu Kelulut *(Heterotrigona itama)* Sebagai Bahan Baku Sediaan Obat Penyembuhan Luka. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, *26*(3), 104–110.

Alhamdani, M. H. J., Syauqy, D., & Prasetio, B. H. 2022. Sistem klasifikasi kualitas jenis-jenis madu berdasarkan warna, kecerahan, dan pH menggunakan metode JST backpropagation. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi Dan Ilmu Komputer*, *6*(6), 2584–2590.

Arung, E. T., Ardy, A. T. K. O., Syafrizal, Naibaho, N. M., & Paramita, S. 2024. Kandungan fitokimia dan aktivitas antibakteri madu Heterotrigona itama yang diternakkan pada areal tumbuhan caliandra (Calliandra culothyrsus) terhadap bakteri Escherichia coli. *Ulin: Jurnal Hutan Tropis*, *8*(1), 111–115.

Astuti, W. Y., & Respatie, D. W. 2022. Kajian senyawa metabolit sekunder pada mentimun *(Cucumis sativus L.). Vegetalika*, *11*(2), 122–134.

Athaillah, A., Pangondian, A., Chandra, P., & Husein, S. 2024. Edukasi Cara Ekstraksi Kandungan Senyawa Alami dari Bahan Alam Dengan Metode Maserasi di SMP Pahlawan Nasional Medan. *Jukeshum: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, *4*(1), 147–151.

Ayuchecaria, N., Saputera, M. M. A., & Niah, R. 2020. Determination of Total Phenolic Content of Bajakah Tampala *(Spatholobus littoralis Hassk.)* Stem Extract Using UV-Visible. *Journal of Indonesian Pharmacists*, *3*(1), 132–141.

Azis, M. A., Wardani, T. S., & Fitriawati, A. 2024. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, Air Kulit Buah Naga Putih (Hylocereus Undatus) Terhadap Staphylococcus Epidermidis ATCC 12238*. OBAT: Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan, *2*(4), 41-56. https://doi.org/10.61132/obat.v2i4.478

Azmin, N., Sari, R. M., & Wijayanti, D. 2023. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Herbal Semi Cair. Jurnal Penelitian Bahan Alam, 9(1), 34–41.

Bachtiar, Armelia, & Rhaihana. 2023. Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengen *(Dillenia serrata)* Menggunakan Metode Spektrof otometri UV-Vis. *Makassar Natural Product Journal (MNPJ)*, 86–101.

Baturante, N., Khadijah, & Tahar, M. 2023. Penentuan Total Flavonoid dan Total Fenolik Ekstrak Metanol Daun Gofasa (Vitex cofassus) dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis. *Saintifik@: Jurnal Pendidikan MIPA*, *8*(2), 21-26.

Bonor, T., Among, S., Febriyanti, R. M., Maisyarah, I. T., & Barliana, M. 2024.

Phytochemical Profile Extracts and Fractions of Pisitan Monyet Leaves (Dysoxylum caulostachyum Miq.). *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, *4*(1), 11-23.

Chan, R., Sidoretno, W. M., & Lestari, R. 2023. Penetapan Kadar Amilosa Pada Mi Sagu Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal JFARM (Jurnal Farmasi)*.

Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Masu. Kemenkes No : 55/MENKES/SK/1/2000. *Department Kesehatan*.

Diniyah, N. 2020. Phenolic composition and antioxidant potential of legumes-A review. *Jurnal Agroteknologi*, *14*(1), 91–102.

Emelda, E. 2019. Farmakognosi: Untuk Mahasiswa Kompetensi Keahlian Farmasi. *Elibrary.Almaata.Ac.Id*.

Fajri, N., Prima, E. C., Riandi, R., & Sriyati, S. 2024. Validasi Metode Analisis Konsentrasi Larutan Kopi berdasarkan Spektroskopi Absorpsi Cahaya. *JIPFRI (Jurnal Inovasi Pendidikan Fisika Dan Riset Ilmiah)*, *8*(1), 51–59.

Firdaus, S. M., Rosyidah, M., Permadi, A., Sulistiawati, E., & Wardhana, B. S. 2024. *Optimasi Proses Ekstraksi Maserasi: Analisis Terhadap Variabel yang Berpengaruh*. Paper presented at the Seminar Nasional Inovasi dan Teknologi (SEMNASINTEK), Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Fitriana, N., Raisyah, R., Nurbayti, S., & Rahmah, F. A. 2023. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of honey bee. *Bioscience*, *7*(2), 11–14.

Furi, M., Meldayanti, & Octaviani, M. 2024. Penentuan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Terap (Artocarpus odoratissimus Blanco). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, *13*(1), 57–64.

Gairola, S., Gupta, V., Bansal, P., Singh, R., & Maithani, M. 2013. Herbal antitussives and expectorants—a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, *5*(2), 5–9.

Hasan, A. E. Z., Herawati, H., Purnomo, P., & Amalia, L. 2020. Fisikokimia madu multiflora asal Riau dan potensinya sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Chemistry Progress*, *13*(2).

Hasanah, Q., Daulay, A. S., Ridwanto, R., & Nasution, H. M. 2024. Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) dengan berbagai konsentrasi metanol. *Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 8(3), 61–70.

Hidayah, H., Mudrikah, S., Amelia, T., & Helsen, H. 2024. *Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan Spektrofotometer UV-VIS*. Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan, 10(13), 377–386.

Jonathan, J., Ruga, R., & Hairani, R. 2024. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Diklorometana Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia rotunda*). *Jurnal Akademika Kimia*, 9(2), 45–50.

Karas D, Ulrichová J, Valentová K. Galloylation of polyphenols alters their biological activity. Food Chem Toxicol. 2017 Jul;105:223-240. doi: 10.1016/j.fct.2017.04.021. Epub 2017 Apr 18. PMID: 28428085.

Khabibi, J., Albayudi, A., & Ginting, D. J. 2022. Kualitas Madu Dari 3 Spesies Lebah Penghasil Madu: Honey Quality from 3 Species of Honey Producing Bees. *Jurnal Silva Tropika*, *6*(1), 43–50.

Kumalasari, Septia, A., Febrianti, D. rizki, & Aisyah, N. 2023. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Heksana, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat Dari Daun. *Jurnal Ilmiah Manuntung : Sains Framsi Dan Kesehatan*, *9*(c), 173–180.

Kumar, A., & Ram, H. 2015. *Animal-based natural products: A review*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7(9), 1–4

Lubena, L., Imelda, D., Firdaus, F. E., Agusta, H., Visca, R., & Anisah, A. 2022. Teknologi Pengemasan Produk Simplisia dan Minuman Herbal Bagi Pelaku UMKM di Lingkungan Pondok Pesantren Riyadhul Huda di Desa Babakan Ciangsana Gunung Putri Bogor. *Dedikasi: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 3(1), 77–85.

Makalunsenge, M. O., Yudistira, A., & Rumondor, E. M. 2022. Antioxidant Activity Test of Extracts and Fractions of Callyspongia aerizusa Obtained from Manado Tua Island. *Pharmacon-Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Sam Ratulangi, 11*(4), 1679-1684.

Makatambah, V., Fatimawali, F., & Rundengan, G. 2020. Analisis senyawa tannin dan aktifitas antibakteri fraksi buah sirih (*piper betle l*) terhadap streptococcus mutans. *Jurnal Mipa*, *9*(2), 75–89.

Marjoni, R., & Saifuddin, I. R. 2022. Konsep-Konsep Dasar Farmakognosi & Fitokimia (-). *Yogyakarta: Pustaka Baru Press*.

Maslahah, N. 2024. Standar Simplisia Tanaman Obat Sebagai Bahan Sediaan Herbal. *Warta BSIP Perkebunan*, *2*(2), 1–4.

Maulida, M., Nurhasnawati, H., & Sundu, R. 2025. Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol rimpang temu putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe) dengan perbedaan konsentrasi pelarut. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia, 7*(1).

Mubarok, S., Yulianto, F., Budiarto, R., Rahmat, B. P. N., & Khoerunnisa, S. A. 2021. Metabolite correlation with antioxidant activity in different fruit maturation stages of Physalis peruviana. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *22*(5).

Nabillah, A., & Chatri, M. 2024. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Untuk Pengendalian Penyakit Pada Tanaman. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, *8*(1), 15900–15911.

Nasrudin, N. 2017. Isolasi senyawa steroid dari kukit akar senggugu (*Clerodendrum serratum L. Moon*). *Pharmacon*, *6*(3).

Ningsih, I. S., & Advinda, L. 2023. Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, *8*(2), 257–263.

Nola, F., Putri, G. K., Malik, L. H., & Andriani, N. 2021. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid dan Terpenoid dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*, 3(7), 1612–1619.

Noviyanty, Y., Tiara, P., & Novia, D. 2024. Skrining fitokimia fraksi aquadest ekstrak etanol daun salam Syzygium polyanthum (Wight) Walp. *Jurnal Ilmiah Farmasi Akademi Farmasi, 7*(2).

Nugroho, G., & Wahidin. (2020). Skrining fitokimia dan uji antioksidan sampel madu hutan, madu budidaya dan madu merek dengan metode dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal Ilmiah Sain dan Teknologi*, *8*(1), 1–8.

Prabowo, S., Yuliani, P. Y. A., Prayitno, Y. A., Lestari, K., & Kusesvara, A. 2019. Penentuan karakteristik fisiko-kimia beberapa jenis madu menggunakan metode konvensional dan metode kimia. *Journal of Tropical AgriFood*, *1*(2), 66–73.

Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. 2016. Ethanol extract, ethyl acetate extract, ethyl acetate fraction, and n-heksana fraction mangosteen peels (*Garcinia mangostana L.)* as source of bioactive substance free-radical scavengers. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, *1*(2), 71–82.

Putri, F. E., Adriani, D., & Rahman, K. 2022. Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada rumput laut cokelat (*Sargassum plagyophyllum*) dengan metode fraksinasi.

Putri, S. A. 2024. Mengenal tentang lebah madu tanpa sengat.

Putri, Y. A., Muharini, R., Lestari, I., Masriani, M., Rudiyansyah, & Ola, A. R. B. 2024. Profil Kandungan Kimia, Fenolik Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Litsea firma (Blume) Hook F (Characterization of Chemical Composition, Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Ethanol Extract from Litsea firma (Blume) Hook F Plants). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, *20*(1), 38–48.

Rahmah, M. H., Nurfila, N., & Sari, A. P. 2022. Total Phenol and Total Flavonoid of Graded Fractination Fresh and Dried Muntingia calabura Extract: A Sustainable Immunomodulator Bioagent for Functional Health Drink. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, *8*(3), 767–780. https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3375

Rahmiati, Zairin Noor, Roselina Panghiyangani, Agung Dwi Widodo. 2023. Literatur Riview: potensi madu kelulut (*Stingless bee honey*) sebagai antituberkulosis berdasarkan kandungan bioaktif sebagai antibakteri,

antiinflamasi, dan antioksidan.

Rakhmat, I. I., Yuslianti, E. R., & Alatas, F. 2020. Sebagai Metabolit Sekunder Bahan Baku Pengembangan Obat Diabetes Melitus Isolation of Active Flavonoid Compound From Honey As a Secondary Metabolite Raw of Diabetes Mellitus Drug. *Medical Sains*, *5*(1), 43–50.

Rollando, R., Warsito, W., Masruri, M., & Widodo, N. 2021. Antibacterial, antioxidant, and cytotoxic flavonoid compound from Sterculia quadrifida leaves. *Cabidigitallibrary.Org*.

Rompas, J. J. I., Kiroh, H. J., Kawatu, M., & Rotinsulu, M. D. 2023. Mengenal Lebah Madu (Apis Spesies). *Provinsi Sulawesi Utara: Yayasan Bina Lentera Insan*.

Rosli, M. A., Nasir, N. A. M., Mustafa, M. Z., Othman, M. A., Zakaria, Z., & Halim, A. S. 2023. Effectiveness of stingless bee (Kelulut) honey versus conventional gel dressing in diabetic wound bed preparation: A randomized controlled trial. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, *19*(1), 209–219.

Rumagit, B. I., Nahor, E., & Lalura, C. C. 2020. Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit buah mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.). *Prosiding Seminar Nasional 2020*, Poltekkes Kemenkes Manado.

Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. I. 2006. Natural product isolation: an overview. *Natural Products Isolation*, 1–25.

Savitri, N. H., Indiastuti, D. N., & Wahyunitasari, M. R. 2019. Inhibitory activity of Allium sativum L. extract against Streptococcus pyogenes and Pseudomonas aeruginosa. *Journal of Vocational Health Studies*, *3*(2), 72–77.

Sayusti, T., Raffiudin, R., Kahono, S., & Nagir, T. 2021. Stingless bees (Hymenoptera: Apidae) in South and West Sulawesi, Indonesia: morphology, nest structure, and molecular characteristics. *Journal of Apicultural Research*, *60*(1), 143–156 .

Shina, M. A. I., Wardani, T. S., & Artini, K. S. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, Fraksi n-Heksan Daun Petai Cina (Leucaena leucocephala) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923. *Obat: Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, *2*(6), 1-37 .

Sinulingga, E. H., Budiastuti, A., & Widodo, A. 2018. Efektivitas madu dalam formulasi pelembap pada kulit kering. *Jurnal Kedokteran Diponegoro (Diponegoro Medical Journal)*, *7*(1), 146–157.

Sivasakthi, S. 2018. Comprehensive review on honey: Biochemical and medicinal properties. *J. Acad. Ind. Res*, *6*(10), 165–178.SNI. (2018). Madu (SNI 8664 – 2018). *Standar Nasional Indonesia*.

Subandrate, Sinulingga, S., Adma, A. C., Monanda, M. D. A., Fatmawatı, Safyudin, & Oswari, L. D. 2024. Effect of solvent polarity on secondary metabolite content and α-glucosidase enzyme IC50 of *Dendrophthoe pentandra* (L). Miq leaves extract. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *22*(1), 1-7.

Suhaila, R., & Susanto, A. 2023. Ekstraksi Senyawa Tanin dalam Ampas Kopi sebagai Sumber Daya Tanin Terbarukan. *Journal of Agrosociology and Sustainability*, *1*(2).

Sujana, D., Saptarini, N. M., Sumiwi, S. A., & Levita, J. 2022. Kadar Fenolik Total Ekstrak Temukunci (Boesenbergia rotunda L) Asal Lembang Jawa Barat dengan Metode Folin-Ciocalteu. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *7*(3), 695-700.

Sulistyani, M., Huda, N., Prasetyo, R., & Alauhdin, M. 2023. Calibration of Microplate Uv-Vis Spectrophotometer for Quality Assurance Testing of Vitamin C using Calibration Curve Method. *Indonesian Journal of Chemical Science*, *12*(2).

Supeno, B., & Erwan. 2016. Model Pengembangan Usaha Inovatif Beternak Lebah Madu Secara Terpadu Untuk Meningkatkan Produk Unggulan Lokal Pulau Lombok. *Laporan Hasil Penelitian MP3EI. Lembaga Penelitian Universitas Mataram*.

Taufik, Haeruddin, & Nurlansi. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan dan Etil Asetat Daun Kelor (Moringa oleifera). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia Sains*, *12*(1).

Utami, D., Dewi, Y. S. K., & Lestari, O. A. 2024. Aktivitas antioksidan dan karakteristik sensori madu kelulut asal Kalimantan Barat. *Jurnal Teknologi Pangan*, 18(2).

Vifta, R., & Advistasari, Y. D. 2018. Analisis penurunan kadar glukosa fraksi n-heksana buah parijoto (medinilla speciosa b) secara in vitro dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Indonesian Journal of Chemical Science*, *7*(3), 249–253.

Viranda. 2009. Kandungan Antioksidan Lycopersicum esculentum. *Jurnal. Kedokteran UI*, *2*(1), 1–67.

Voight, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. *Yogyakarta : Gajah Mada University Press*.

Wang, Y., Chen, J., He, G., Yin, L., & Liao, Y. 2025. Unlocking the potential of flavonoid biosynthesis through integrated metabolic engineering. *Frontiers in Plant Science*, *16*, 1597007.

Wibowo, Bagus, & Arief. 2016. Alat Uji Kualitas Madu Menggunakan Polarimeter dan Sensor Warna. *Jurnal Teknik ITS*, *5*(1).

Ya'akob, H., Norhisham, N. F., Mohamed, M., Sadek, N., & Endrini, S. 2019.

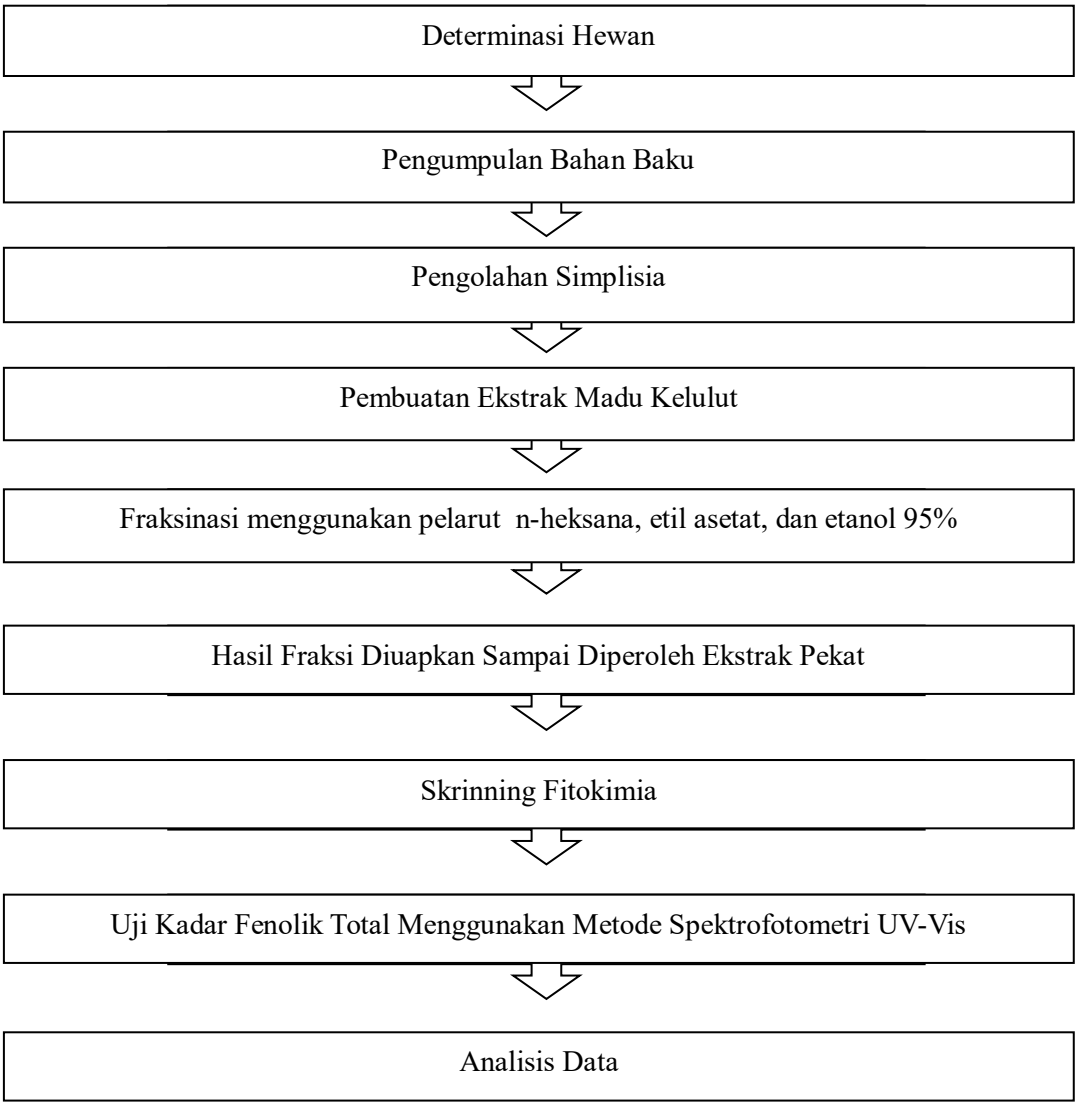
Evaluation of physicochemical properties of *trigona sp. stingless bee* honey from various districts of Johor. *J. Kejuruter*, *2*, 59–67.

Zahra, N. N., Muliasari, H., Andayani, Y., & Sudarma, I. M. 2021. Analisis kadar fenolik total dan aktivitas antiradikal bebas madu dan propolis Trigona sp. asal Lombok Utara. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 74–82.

Zulfa, A. F., Batistuta, M. A., & Kustiawan, P. M. 2022. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari propolis lebah kelulut Geniotrigona thoracica terhadap Bakteri *Staphyloccocus aureus*. *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *3*(2), 215–220.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Hasil Surat Determinasi Hewan

KEMENTERIAN TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS KEHUTANAN
SUB-LAB. PERLINDUNGAN HUTAN
Alamat: KAMPUS GUNUNG KELUA, Jl. Penajam Telp. (0541) 735089, 74968 Fax.735379 Samarinda 75119
e-mail: harmonis@fahutan.ac.id

Nomor : 01/SL-Perlintan/Kht-UM/2025
Lampiran : -
Perihal : *Hasil Identifikasi Jenis Lebah Kelulut*

Kepada Yth.

Ketua STIKSAM

di-
Tempat

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi jenis lebah yang dikirim ke Laboratorium Budidaya Hutan (sub Laboratorium Perlindungan Hutan) Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda sesuai dengan surat permohonan Ketua (Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda) Nomor : 595/STIKSAM.WKI/S1F/AKA/X/2024 bahwa sampel lebah tersebut adalah Jenis *Heterotrigona itama,* dengan urutan taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Artropoda
Kelas : Insekta
Ordo : Hymenoptera
Famili : Apidae
Tribe : Meliponini
Genus : Heterotrigona
Jenis : *Heterotrigona itama*

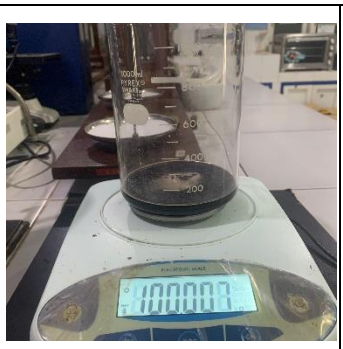
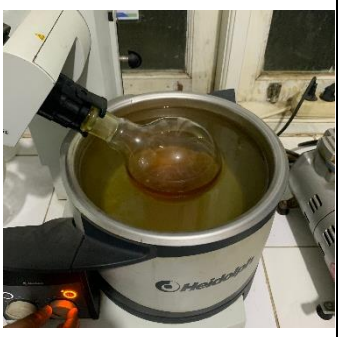
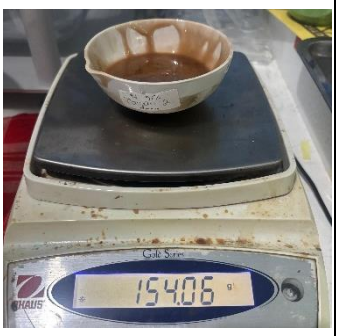
Demikian hasil analisis ini, disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Samarinda, 13 Januari 2025
Koordinator



Oshiliin Rucmana Saud, S.Hut., M.Hut
NIP. 19930611 202421 1 001

Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

		
1. Madu disaring	2. Ditimbang sampel madu seberat 100 gram	3. Madu dilarutkan dengan Etanol 95% dan di aduk menggunakan *magnetic*
		
4. Filtrat madu disaring menggunakan kertas saring	5. Filtrat Madu di uapkan menggunakan *rotary evaporator*	6. Ditimbang cawan kosong
		
7. Filtrat madu ditangas di *waterbath*	8. Ditimbang ekstrak etanol 95%	

Lampiran 4. Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak Madu Kelulut 95%

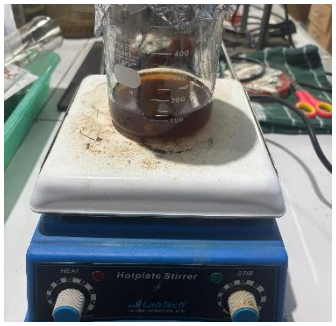
Rendemen Madu Kelulut

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{58{,}25\ \text{g}}{100\ \text{g}} \times 100\%$$

$$= 58{,}25\ \%$$

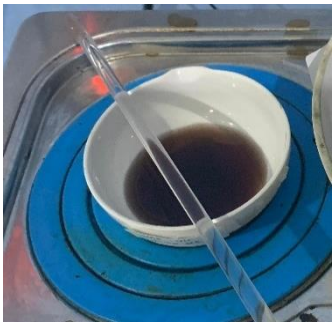
Lampiran 5. Fraksinasi Ekstrak Etanol 95% Menggunakan Pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol-air

		
1. Madu seberat 50 gram	2. Madu dilarutkan dengan etanol-air menggunakan *magnetic stirer*	3.Fraksinasi Etanil-air dan n-heksana didalam corong pisah (fraksi pertama)
		
2. Fraksinasi Etanol Air dan n-heksana di dalam corong pisah (fraksi kedua)	3. Fraksinasi Etanol Air dan n-heksana di dalam corong pisah (fraksi ketiga)	4. Fraksi n-heksana ditampung di dalam cawan porselen
		
6. Fraksinasi Etanol Air dan Etil Asetat di dalam corong pisah (Fraksi pertama)	7. Fraksinasi Etanol Air dan Etil Asetat di dalam corong pisah (Fraksi kedua)	8. Fraksinasi Etanol Air dan Etil Asetat di dalam corong pisah (Fraksi ketiga)

(Lanjutan)

	
9. Filtrat etil asetat ditampung dicawan porselen	10. Fraksi etanol-air ditampung di dalam cawan porselen

Lampiran 6. Penguapan Fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol-air

		
1. Berat cawan Kosong Fraksi n-heksana	2. Fraksi n-heksana di tangas di atas *waterbath*	3. Berat Cawan + Ekstrak Fraksi n-heksana
		
4. Berat cawan Kosong Fraksi Etil Asetat	5. Fraksi Etil Asetat di tangas di atas *waterbath*	6. Berat Cawan + Ekstrak Fraksi Etil Asetat
		
7. Berat cawan Kosong Fraksi Etanol-Air	8. Fraksi Etanol-Air di tangas di atas *waterbath*	9. Berat Cawan + Ekstrak Fraksi Etanol-Air

Lampiran 7. Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak Fraksi n-heksana, Etil Asetat dan Etanol-Air Madu Kelulut

Diketahui :

Berat ekstrak etanol 95% : 50 g

Berat fraksi n-heksana : 10,450 g

Berat fraksi etil asetat : 14,202 g

Berat fraksi etanol-air : 21,492 g

Rendemen Ekstrak Fraksi n-heksana

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{10{,}450\ \text{g}}{50\ \text{g}} \times 100\%$$

$$= 20{,}9\ \%$$

Rendemen Ekstrak Fraksi Etil Asetat

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{14{,}202\ \text{g}}{50\ \text{g}} \times 100\%$$

$$= 28{,}404\ \%$$

Rendemen Ekstrak Fraksi Etanol-Air

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{21{,}492\ \text{g}}{50\ \text{g}} \times 100\%$$

$$= 42{,}984\ \%$$

Lampiran 8. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pustaka	Gambar	Hasil
Alkaloid	Mayer	Putih/Kuning		(-)
	Bouchardat	Coklat-Hitam		(+)
	Dragendorff	Merah Bata		(+)
Flavonoid	0,1 mg serbuk Mg + 1 mL HCl pekat + 2 mL amil alkohol lalu digojok	Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol		(+)
Fenol	besi klorida 5% yang dilarutkan pada 10 ml alkohol	warna hijau kehitaman		(-)
Steroid / Triterpenoid	anhidrida asetat 3 tetes dan 1 tetes H_2SO_4 Pekat	Triterpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan steroid ditandai dengan munculnya warna biru		(+) Triterpenoid

Keterangan :

(+) = positif menggandung senyawa

(-) = negatif menggandung senyawa

Lampiran 9. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Fraksi n-heksana Madu Kelulut

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pustaka	Gambar	Hasil
Alkaloid	Mayer	Putih/Kuning		(+)
	Bouchardat	Coklat-Hitam		(-)
	Dragendorff	Merah Bata		(+)
Flavonoid	0,1 mg serbuk Mg + 1 mL HCl pekat + 2 mL amil alkohol lalu digojok	Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol		(-)
Fenol	besi klorida 5% yang dilarutkan menggunakan 10 ml akuades	warna hijau kehitaman		(-)
Steroid / Triterpenoid	anhidrida asetat 3 tetes dan 1 tetes H_2SO_4 Pekat	Terpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan steroid ditandai dengan munculnya warna biru		(+) Triterpenoid

Keterangan :

(+) = positif menggandung senyawa

(-) = negatif menggandung senyawa

Lampiran 10. Hasil Skrinning Fitokimia Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut

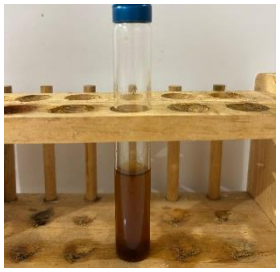
Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pustaka	Gambar	Hasil
Alkaloid	Mayer	Putih/Kuning		(+)
	Bouchardat	Coklat-Hitam		(+)
	Dragendorff	Merah Bata		(-)
Flavonoid	0,1 mg serbuk Mg + 1 mL HCl pekat + 2 mL amil alkohol lalu digojok	Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol		(+)
Fenol	besi klorida 5% yang dilarutkan menggunakan 10 ml akuades	warna hijau kehitaman		(-)
Steroid / Triterpenoid	anhidrida asetat 3 tetes dan 1 tetes H_2SO_4 Pekat	Triterpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan steroid ditandai dengan munculnya warna biru		(+) Triterpenoid

Keterangan :

(+) = positif menggandung senyawa

(-) = negatif menggandung senyawa

Lampiran 11. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Fraksi Etanol-Air Madu Kelulut

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pustaka	Gambar	Hasil
Alkaloid	Mayer	Putih/Kuning		(+)
	Bouchardat	Coklat-Hitam		(+)
	Dragendorff	Merah Bata		(-)
Flavonoid	0,1 mg serbuk Mg + 1 mL HCl pekat + 2 mL amil alkohol lalu digojok	Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol		(-)
Fenol	besi klorida 5% yang dilarutkan menggunakan 10 ml akuades	warna hijau kehitaman		(-)
Steroid / Triterpenoid	anhidrida asetat 3 tetes dan 1 tetes H_2SO_4 Pekat	Triterpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan steroid ditandai dengan munculnya warna biru		(+) Triterpenoid

Keterangan :

(+) = positif menggandung senyawa

(-) = negatif menggandung senyawa

Lampiran 12. Perhitungan Konsentrasi Larutan Induk Asam Galat

Perhitungan larutan stok baku pembanding asam galat

Jumlah asam galat : 10 mg

Volume labu ukur : 25 mL

Konsentrasi larutan stok :

Ppm = mg/L

$= \frac{10}{0{,}025}$

= 400 µg/mL

Lampiran 13. Hasil pengenceran larutan seri baku pembanding

Perhitungan setiap seri konsentrasi untuk volume larutan yang akan dibuat adalah 5 mL

1. Konsentrasi 20 µg/mL:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 400\ \mu g/mL = 5\ mL \times 20\ \mu g/mL$$

$$V_1 = \frac{(5\ mL \times 20\ \mu g/mL)}{400\ \mu g/mL}$$

$$V_1 = 0{,}25\ mL \text{ atau sekitar } 250\ \mu L$$

2. Konsentrasi 40 µg/mL:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 400\ \mu g/mL = 5\ mL \times 40\ \mu g/mL$$

$$V_1 = \frac{(5\ mL \times 40\ \mu g/mL)}{400\ \mu g/mL}$$

$$V_1 = 0{,}5\ mL \text{ atau sekitar } 500\ \mu L$$

3. Konsentrasi 60 µg/mL:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 400\ \mu g/mL = 5\ mL \times 60\ \mu g/mL$$

$$V_1 = \frac{(5\ mL \times 60\ \mu g/mL)}{400\ \mu g/mL}$$

$$V_1 = 0{,}75\ mL \text{ atau sekitar } 750\ \mu L$$

4. Konsentrasi 80 µg/mL:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 400\ \mu g/mL = 5\ mL \times 80\ \mu g/mL$$

$$V_1 = \frac{(5\ mL \times 80\ \mu g/mL)}{400\ \mu g/mL}$$

$$V_1 = 1\ mL \text{ atau sekitar } 1000\ \mu L$$

(Lanjutan)

5. Konsentrasi 100 µg/mL:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 400\ \mu g/mL = 5\ mL \times 100\ \mu g/mL$$

$$V_1 = \frac{(5\ mL \times 100\ \mu g/mL)}{400\ \mu g/mL}$$

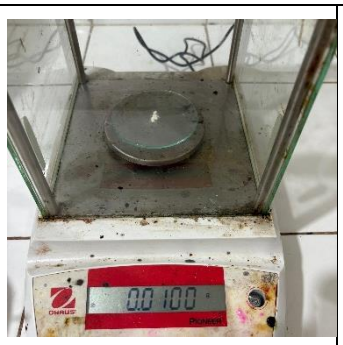
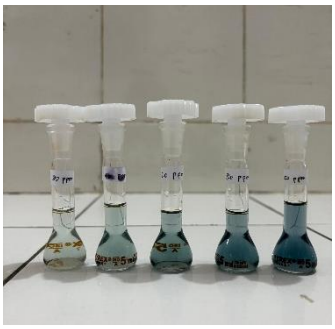
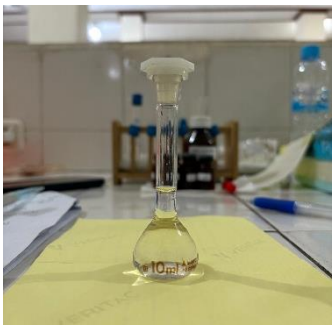
$$V_1 = 1{,}25\ mL \text{ atau sekitar } 1250\ \mu L$$

Untuk membuat 5 mL larutan standar untuk setiap serinya, diambil sejumlah mikroliter larutan stok yang telah dihitung pengenceranya dan tambahkan etanol 95% hingga volume 5 mL.

Lampiran 14. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak Etanol 95%, Fraksi n-heksana, Etil Asetat Dan Etanol-Air Madu Kelulut

Perhitungan larutan uji ekstrak 95% : Sampel Uji : 200 mg Volume labu ukur : 10 mL Konsentrasi larutan stok : Ppm = mg/L $= \frac{200}{0,01}$ = 20.000 µg/mL	Perhitungan larutan uji ekstrak Fraksi N-heksana : Sampel Uji : 200 mg Volume labu ukur : 10 mL Konsentrasi larutan stok : Ppm = mg/L $= \frac{200}{0,01}$ = 20.000 µg/mL
Perhitungan larutan uji ekstrak Etil Asetat : Sampel Uji : 200 mg Volume labu ukur : 10 mL Konsentrasi larutan stok : Ppm = mg/L $= \frac{200}{0,01}$ = 20.000 µg/mL	Perhitungan larutan uji ekstrak Etanol-Air : Sampel Uji : 200 mg Volume labu ukur : 10 mL Konsentrasi larutan stok : Ppm = mg/L $= \frac{200}{0,01}$ = 20.000 µg/mL

Lampiran 15. Pembuatan Larutan Induk dan seri konsentrasi Asam Galat

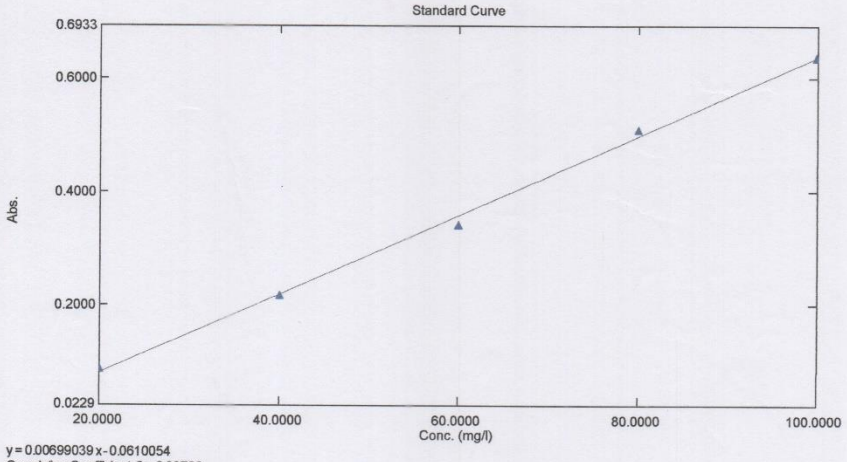
		
1. Serbuk Asam Galat ditimbang seberat 10 mg	2. Dilarutkan dengan etanol di dalam labu ukur 25 ml.	3. Di pipet larutan induk untuk membuat larutan seri asam galat 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm.
		
4. Dibuat larutan blanko dengan volume 10 mL		

Lampiran 16. Lamda Maksimum Asam Galat

Standard Table Report

06/18/2025 03:41:17 PM

File Name: G:\SPEKTRO\SPEKTRO 2025\Mei Lika\Kurva Standard Asam Galat Fix.pho



y = 0.00699039 x - 0.0610054
Correlation Coefficient r2 = 0.99768

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL765.0	Wgt.Factor	Comments
1	Asam Galat 1	Std-Repeat		20.0000	0.0845	1.0000	
2	Asam Galat 1-2	Std-Repeat		20.0000	0.0846	1.0000	
3	Asam Galat 1-Avg	Average		20.0000	0.0846	1.0000	Avg of preceding 2 Samples
4	Asam Galat 2	Std-Repeat		40.0000	0.2174	1.0000	
5	Asam Galat 2-2	Std-Repeat		40.0000	0.2172	1.0000	
6	Asam Galat 2-Avg	Average		40.0000	0.2173	1.0000	Avg of preceding 2 Samples
7	Asam Galat 3	Std-Repeat		60.0000	0.3422	1.0000	
8	Asam Galat 3-2	Std-Repeat		60.0000	0.3427	1.0000	
9	Asam Galat 3-Avg	Average		60.0000	0.3424	1.0000	Avg of preceding 2 Samples
10	Asam Galat 4	Std-Repeat		80.0000	0.5110	1.0000	
11	Asam Galat 4-2	Std-Repeat		80.0000	0.5110	1.0000	
12	Asam Galat 4-Avg	Average		80.0000	0.5110	1.0000	Avg of preceding 2 Samples
13	Asam Galat 5	Std-Repeat		100.0000	0.6368	1.0000	
14	Asam Galat 5-2	Std-Repeat		100.0000	0.6367	1.0000	
15	Asam Galat 5-Avg	Average		100.0000	0.6368	1.0000	Avg of preceding 2 Samples
16							

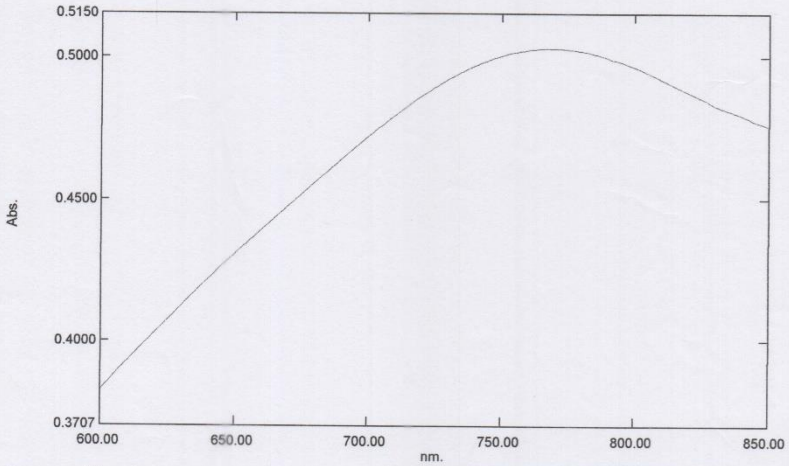
Page 1 / 1

Lampiran 17. Kurva Baku Standar Pembanding Asam Galat

Spectrum Point Pick Report

06/18/2025 03:33:36 PM

Data Set: Lamda Max Asam Galat Fix - RawData



No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	765.00	0.5029	Lamda Max
2			

[Measurement Properties]
Wavelength Range (nm.): 600.00 to 850.00
Scan Speed: Fast
Sampling Interval: 0.2
Auto Sampling Interval: Enabled
Scan Mode: Single

[Instrument Properties]
Instrument Type: UV-1800 Series
Measuring Mode: Absorbance
Slit Width: 1.0 nm
Light Source Change Wavelength: 364.0 nm
S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
Attachment: None

[Operation]
Threshold: 0.0010000
Points: 4
InterPolate: Disabled
Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]
Weight:
Volume:
Dilution:
Path Length:
Additional Information:

Page 1 / 1

Lampiran 18. Perhitungan pembuatan larutan Follin-Ciocalteu

Perhitungan larutan Follin-Ciocalteu

Bobot Follin-Ciocalteu : 7,5 ml

Volume labu ukur : 100 mL

Konsentrasi larutan Follin-Ciocalteu :

$$\text{Follin-Ciocalteu} = \frac{\text{volume(mL)}}{\text{Volume (mL)}} \times 100\%$$

$$= \frac{7{,}5 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$= 7{,}5\ \%$$

Lampiran 19. Pembuatan Larutan Follin-Ciocalteu

1.	Larutan Follin-Ciocalteu diukur sebanyak 7,5 ml	
2.	Larutan Follin-Ciocalteu dilarutkan dengan aquadest dan di ad kan di dalam labu ukur 100 mL	

Lampiran 20. Perhitungan pembuatan larutan NaOH 1%

Perhitungan larutan NaOH 1%

Bobot NaOH : 1 g

Volume labu ukur : 100 mL

Konsentrasi larutan NaOH :

Follin-Ciocalteu $= \frac{\text{Bobot (g)}}{\text{Volume (mL)}} \times 100\%$

$= \frac{1\ \text{g}}{100\ \text{mL}} \times 100\%$

$= 1\ \%$

Lampiran 21. Pembuatan Larutan NaOH 1%

1.	NaOH ditimbang seberat 1 gram	
2.	NaOH dilarutkan dengan aquadest dan di ad kan di dalam labu ukur 100 mL	

Lampiran 22. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Etanol 95% dan Replikasinya

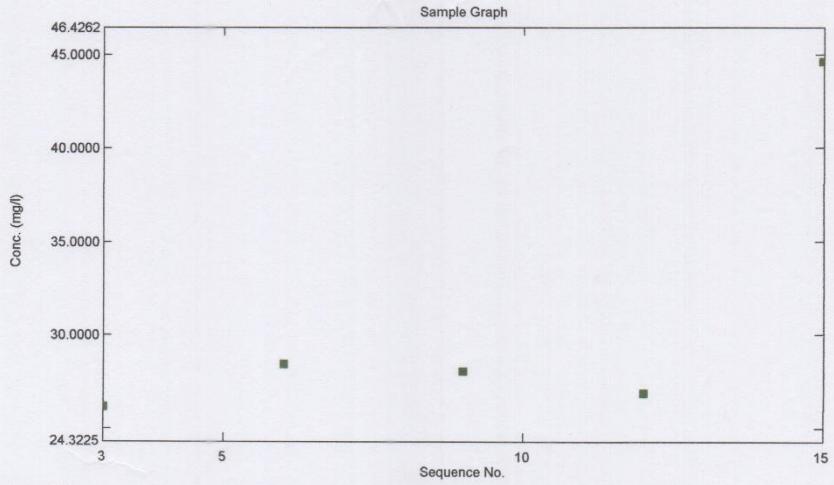
1.	Ekstrak etanol 95% madu kelulut ditimbang seberat 200 mg	
2.	Ekstrak dilarutkan dengan etanol dan di ad kan di dalam labu ukur 10 ml. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 20.000 ppm	
3.	Dibuat larutan uji sampel ekstrak etanol 95% dan direplikasi sebanyak 5 replikasi	

Lampiran 23. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 95%

Sample Table Report

06/24/2025 03:48:12 PM

File Name: G:\SPEKTRO\SPEKTRO 2025\Mei Lika\Ekstrak Etanol Madu Kelulut.pho

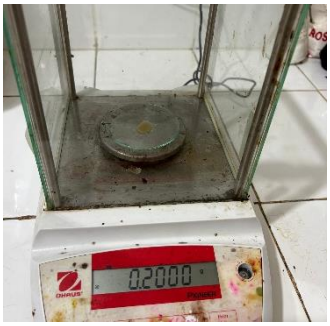
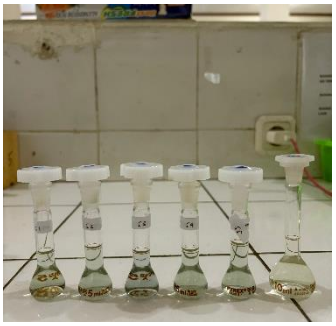


Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL765.0	Comments
1	Ekstrak Madu Kelulut 1	Unk-Repeat			0.1219	
2	Ekstrak Madu Kelulut 1-2	Unk-Repeat			0.1219	
3	Ekstrak Madu Kelulut 1-Avg	Average		26.1645	0.1219	Avg of preceding 2 Samples
4	Ekstrak Madu Kelulut 2	Unk-Repeat			0.1378	
5	Ekstrak Madu Kelulut 2-2	Unk-Repeat			0.1378	
6	Ekstrak Madu Kelulut 2-Avg	Average		28.4423	0.1378	Avg of preceding 2 Samples
7	Ekstrak Madu Kelulut 3	Unk-Repeat			0.1350	
8	Ekstrak Madu Kelulut 3-2	Unk-Repeat			0.1351	
9	Ekstrak Madu Kelulut 3-Avg	Average		28.0461	0.1350	Avg of preceding 2 Samples
10	Ekstrak Madu Kelulut 4	Unk-Repeat			0.1268	
11	Ekstrak Madu Kelulut 4-2	Unk-Repeat			0.1268	
12	Ekstrak Madu Kelulut 4-Avg	Average		26.8674	0.1268	Avg of preceding 2 Samples
13	Ekstrak Madu Kelulut 5	Unk-Repeat			0.2507	
14	Ekstrak Madu Kelulut 5-2	Unk-Repeat			0.2507	
15	Ekstrak Madu Kelulut 5-Avg	Average		44.5843	0.2507	Avg of preceding 2 Samples
16						

Page 1 / 1

Lampiran 24. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Fraksi n-heksana dan Replikasinya

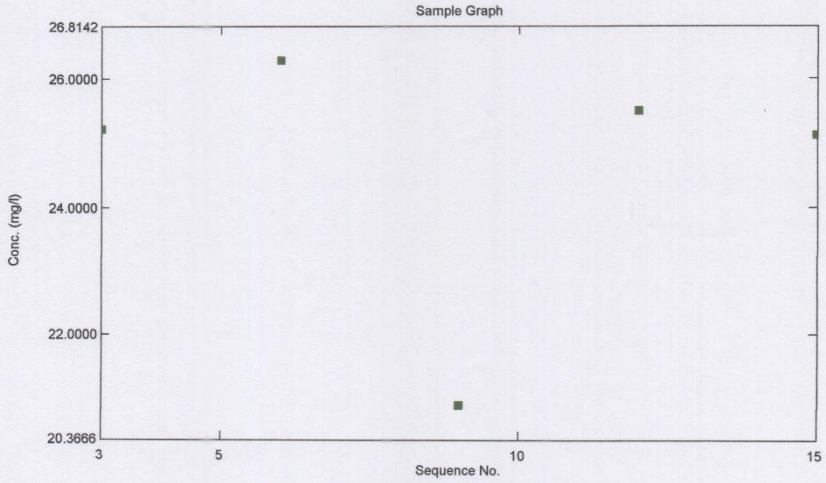
1.	Ekstrak Fraksi n-heksana madu kelulut ditimbang seberat 200 mg	
2.	Ekstrak dilarutkan dengan etanol dan di ad kan di dalam labu ukur 10 ml. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 20.000 ppm	
3.	Dibuat larutan uji sampel ekstrak Fraksi n-heksana dan direplikasi sebanyak 5 replikasi	

Lampiran 25. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi n-heksana

Sample Table Report

06/25/2025 04:27:53 PM

File Name: G:\SPEKTRO\SPEKTRO 2025\Mei Lika\Fraksi N Heksan Madu Kelulut.pho

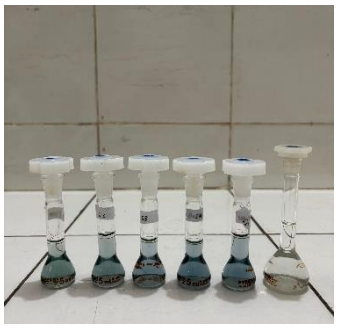


Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL765.0	Comments
1	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 1	Unk-Repeat			0.1154	
2	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 1-2	Unk-Repeat			0.1151	
3	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 1-Avg	Average		25.2073	0.1152	Avg of preceding 2 Samples
4	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 2	Unk-Repeat			0.1226	
5	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 2-2	Unk-Repeat			0.1228	
6	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 2-Avg	Average		26.2769	0.1227	Avg of preceding 2 Samples
7	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 3	Unk-Repeat			0.0851	
8	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 3-2	Unk-Repeat			0.0852	
9	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 3-Avg	Average		20.9039	0.0851	Avg of preceding 2 Samples
10	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 4	Unk-Repeat			0.1172	
11	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 4-2	Unk-Repeat			0.1171	
12	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 4-Avg	Average		25.4900	0.1172	Avg of preceding 2 Samples
13	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 5	Unk-Repeat			0.1145	
14	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 5-2	Unk-Repeat			0.1145	
15	Fraksi N Heksan Madu Kelulut 5-Avg	Average		25.1124	0.1145	Avg of preceding 2 Samples
16						

Page 1 / 1

Lampiran 26. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Fraksi Etil Asetat dan Replikasinya

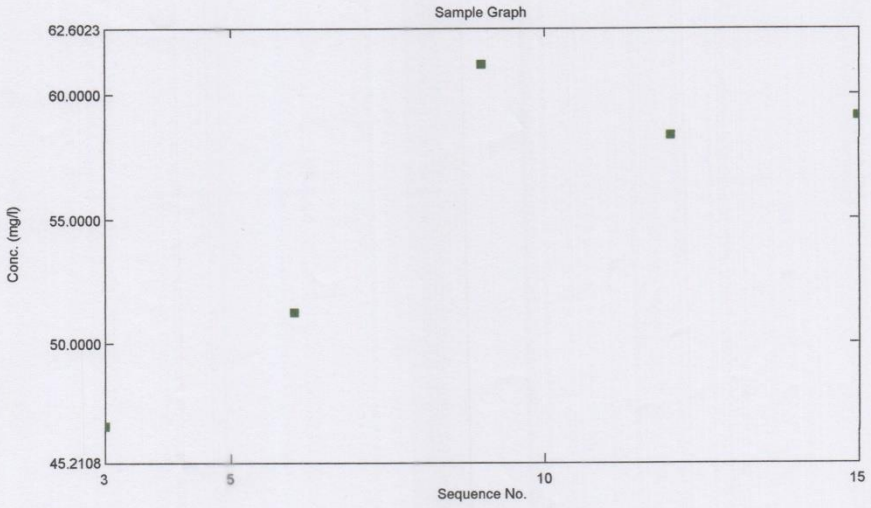
1.	Ekstrak Fraksi Etil Asetat madu kelulut ditimbang seberat 200 mg	
2.	Ekstrak dilarutkan dengan etanol 95 % dan di ad kan di dalam labu ukur 10 ml. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 20.000 ppm	
3.	Dibuat larutan uji sampel ekstrak Fraksi etanol-air dan direplikasi sebanyak 5 replikasi	

Lampiran 27. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi Etil Asetat

Sample Table Report

06/26/2025 10:36:40 AM

File Name: G:\SPEKTRO\SPEKTRO 2025\Mei Lika\Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL765.0	Comments
1	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 1	Unk-Repeat			0.2652	
2	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 1-2	Unk-Repeat			0.2651	
3	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 1-Avg	Average		46.6601	0.2652	Avg of preceding 2 Samples
4	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 2	Unk-Repeat			0.2971	
5	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 2-2	Unk-Repeat			0.2971	
6	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 2-Avg	Average		51.2288	0.2971	Avg of preceding 2 Samples
7	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 3	Unk-Repeat			0.3665	
8	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 3-2	Unk-Repeat			0.3665	
9	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 3-Avg	Average		61.1530	0.3665	Avg of preceding 2 Samples
10	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 4	Unk-Repeat			0.3466	
11	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 4-2	Unk-Repeat			0.3466	
12	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 4-Avg	Average		58.3077	0.3466	Avg of preceding 2 Samples
13	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 5	Unk-Repeat			0.3522	
14	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 5-2	Unk-Repeat			0.3523	
15	Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut 5-Avg	Average		59.1197	0.3523	Avg of preceding 2 Samples
16						

Page 1 / 1

Lampiran 28. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Fraksi Etanol-Air dan Replikasinya

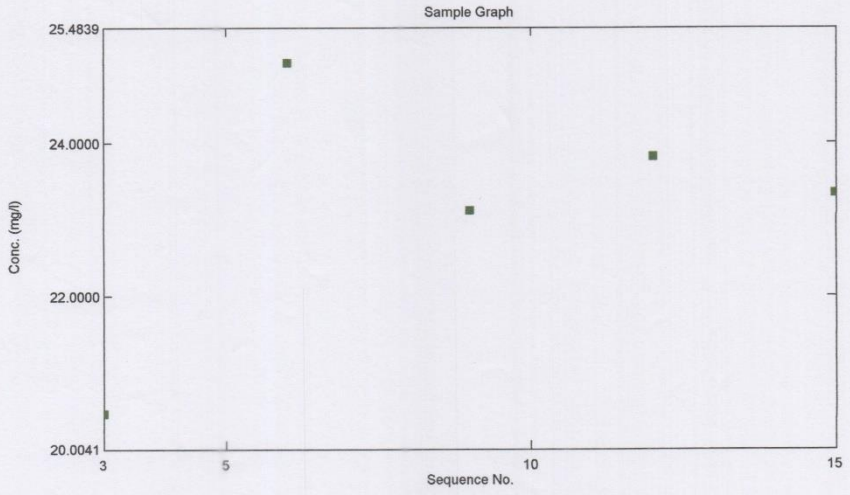
1.	Ekstrak Ekstrak Fraksi Etanol Air madu kelulut ditimbang seberat 200 mg	
2.	Ekstrak dilarutkan dengan etanol 95 % dan di ad kan di dalam labu ukur 10 ml. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 20.000 ppm	
3.	Dibuat larutan uji sampel ekstrak etanol-air dan direplikasi sebanyak 5 replikasi	

Lampiran 29. Hasil Pengukuran Uji Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi Etanol-Air

Sample Table Report

06/26/2025 01:52:34 PM

File Name: G:\SPEKTRO\SPEKTRO 2025\Mei Lika\Fraksi Etanol Air Madu Kelulut .pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL765.0	Comments
1	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 1	Unk-Repeat			0.0820	
2	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 1-2	Unk-Repeat			0.0821	
3	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 1-Avg	Average		20.4608	0.0820	Avg of preceding 2 Samples
4	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 2	Unk-Repeat			0.1139	
5	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 2-2	Unk-Repeat			0.1140	
6	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 2-Avg	Average		25.0273	0.1139	Avg of preceding 2 Samples
7	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 3	Unk-Repeat			0.1005	
8	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 3-2	Unk-Repeat			0.1006	
9	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 3-Avg	Average		23.1162	0.1006	Avg of preceding 2 Samples
10	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 4	Unk-Repeat			0.1054	
11	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 4-2	Unk-Repeat			0.1054	
12	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 4-Avg	Average		23.8060	0.1054	Avg of preceding 2 Samples
13	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 5	Unk-Repeat			0.1022	
14	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 5-2	Unk-Repeat			0.1022	
15	Fraksi Etanol Air Madu Kelulut 5-Avg	Average		23.3487	0.1022	Avg of preceding 2 Samples
16						

Page 1 / 1

Lampiran 30. Perhitungan Persamaan Garis Regresi Linier

No	xi	Yi	(xi-x̄)	(xi-x̄)²	(yi-ȳ)	(yi-ȳ)²	(xi-x̄)(yi-ȳ)
1	20	0,0846	-40	1600	-0,27382	0,074977	10,9528
2	40	0,2173	-20	400	-0,14112	0,019915	2,8224
3	60	0,3424	0	0	-0,01602	0,000257	0
4	80	0,5110	20	400	0,15258	0,023281	3,0516
5	100	0,6368	40	1600	0,27838	0,077495	11,1352
∑	**300**	**1,7921**	0	**4000**	**0,00000**	**0,195925**	**27,962**

$\bar{x} = \frac{300}{5} = 60$

$\bar{y} = \frac{1,7921}{5} = 0,35842$

$b = \frac{\sum(xi-\bar{x})(yi-\bar{y})}{\sum(xi-\bar{x})^2}$

$= \frac{27,962}{4000} = 0,0069905$

a = y - bx

= 0,35842 – (0,0069905 x 60)

= 0,35842 – 0,41943 = - 0,06101

Sehingga diperoleh persamaan garis regresi

y = bx + a

y = 0,0069905+ 0,06101

Untuk mencari hubungan linier antara konsentrasi (x) dengan absorbansi (y), maka dihitung koefisien (r) sebagai berikut :

$r = \frac{\sum(xi-\bar{x})(yi-\bar{y})}{\sqrt{\sum(xi-\bar{x})^2(yi-\bar{y})^2}}$

$= \frac{27,926}{\sqrt{4000\ x\ 0,195925}}$

= 0,9975480185201

Lampiran 31. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

Persamaan linier :

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0,1268 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1268 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,18781}{0,0069905}$

= 26,8864 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,1350 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1350 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,19601}{0,0069905}$

= 28,0394 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,1378 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1378 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,19881}{0,0069905}$

= 28,4400 ppm

Lampiran 32. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 95% dan Perhitungan standar deviasi Kadar Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{c \times v}{m}$

a. Replikasi I

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{26{,}8865 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,3433 mg GAE/g

b. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{28{,}0394 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,4020 mg GAE/g

c. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{28{,}4400 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,4220 mg GAE/g

Rata-rata kadar fenolik

$= \frac{1{,}3433 + 1{,}4020 + 1{,}4220}{3}$

$= \frac{3{,}8875}{3}$

= **1,2958 mg GAE/g**

No	xi	x	(xi-x)	$(xi-x)^2$
1.	1,3443	1,389423333	-0,04512333333333	0,002036115
2.	1,40197	1,389423333	0,01254666666667	0,000157419
3.	1,4220	1,389423333	0,03257666666667	0,001061239
∑	**4,16827**	**-**	**0,0000**	**0,003254773**

SD = $\sqrt{\frac{\sum(xi-x)^a}{n-1}} = \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}037127647}}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}037127647}}{2}} = \sqrt{0{,}018563823}$

= 0,136249122

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

= **1,2958 ± 0,1362 mg GAE/g ekstrak**

Lampiran 33. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Fraksi N-heksana Madu Kelulut

Persamaan linier :

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0,1145 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1145 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,17551}{0,0069905}$

= 25,1069 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,1152 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1152 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,17621}{0,0069905}$

= 25,2070 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,1172 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1172 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,17821}{0,0069905}$

= 25,4931 ppm

Lampiran 34. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi N-heksana dan Perhitungan standar deviasi Kadar Fraksi N-heksana

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{c \times v}{m}$

a. Replikasi I

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{25{,}1069 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,2253 mg GAE/g

b. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{25{,}2070 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,2604 mg GAE/g

c. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{25{,}4931 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,2747 mg GAE/g

Rata-rata kadar fenolik

$= \frac{1{,}2253 \ + 1{,}2604 + 1{,}2747}{3}$

$= \frac{3{,}7604}{3}$

= **1,2535 mg GAE/g**

No	xi	x	(xi-x)	(xi-x)²
1.	1,2253	1,2534	-0,02810	0,00078961
2.	1,2603	1,2534	0,00690	0,00004761
3.	1,2746	1,2534	0,02120	0,00044944
∑	**3,7602**	**-**	**0,0000**	**0,00128666**

SD = $\sqrt{\frac{\sum(xi-x)^a}{n-1}} = \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}001292287}}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}001292287}}{2}} = \sqrt{0{,}000646143}$

= 0,0254

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

= **1,2535 ± 0,0254 mgGAE/g ekstrak**

Lampiran 35. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Fraksi Etil Asetat Madu Kelulut

Persamaan linier :

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0.3466 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0.3466 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,40761}{0,0069905}$

= 58,3091 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,3523 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,3523 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,41331}{0,0069905}$

= 59,1245 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,3665 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,3665 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,42751}{0,0069905}$

= 61,1558 ppm

Lampiran 36. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi Etil Asetat dan Perhitungan standar deviasi Kadar Fraksi Etil Asetat

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{c \times v}{m}$

a. Replikasi I

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{58{,}3091 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 2,9154 mg GAE/g

b. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{59{,}1245 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 2,9562 mg GAE/g

c. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{61{,}1558 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 3,0578 mg GAE/g

Rata-rata kadar fenolik

$= \frac{2{,}9154 \ + 2{,}9562 \ + 3{,}0578}{3}$

$= \frac{8{,}9294}{3}$

= **2,9765 mg GAE/g**

No	xi	x	(xi-x)	$(xi-x)^2$
1.	2,9154	2,976433333	-0,06103333333333	0,003725068
2.	2,9562	2,976433333	-0,02023333333333	0,000409388
3.	3,0577	2,976433333	0,08126666666667	0,006604271
∑	**8,9293**	**-**	**0,0000**	**0,010738727**

SD = $\sqrt{\frac{\sum(xi-x)^a}{n-1}} = \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}010754987}}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}010754987}}{2}} = \sqrt{0{,}005377493}$

= 0,0733

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

= **2,9765 ± 0,0733 mgGAE/g ekstrak**

Lampiran 37. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Fraksi Etanol-Air Madu Kelulut

Persamaan linier :

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0,1006 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1006 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,16161}{0,0069905}$

= 23,1185 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,1022 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1022 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,16321}{0,0069905}$

= 23,3474 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,1054 = 0,0069905x + (- 0,06101)

$x = \frac{0,1054 + 0,06101}{0,0069905}$

$= \frac{0,1664}{0,0069905}$

= 23,8051 ppm

Lampiran 38. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Fraksi Etanol-Air dan Perhitungan standar deviasi Kadar Fraksi Etanol-Air

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{c \times v}{m}$

a. Replikasi I

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{23{,}1185 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,1559 mg GAE/g

b. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{23{,}3474 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,1674 mg GAE/g

c. Replikasi II

Kadar Fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{23{,}8051 \ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ x } 10 \text{ mL x } 10^{-3}}{0{,}2 \text{ g}}$

= 1,1903 mg GAE/g

Rata-rata kadar fenolik

$= \frac{1{,}1559 \ + 1{,}1674 \ + 1{,}1903}{3}$

$= \frac{3{,}5136}{3}$

= **1,1712 mg GAE/g**

No	xi	x	(xi-x)	$(xi-x)^2$
1.	1,1559	1,171133333	-0,01523333333333	0,00023409
2.	1,1673	1,171133333	-0,00383333333333	0,00001444
3.	1,1902	1,171133333	0,01906666666667	0,00036481
∑	**3,5134**	**-**	**0,0000**	**0,000610287**

SD = $\sqrt{\frac{\sum(xi-x)^a}{n-1}} = \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}000613340}}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{\mathbf{0{,}000613340}}{2}} = \sqrt{0{,}000306670}$

= 0,0175

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 95% Madu Kelulut

= **1,1712 ± 0,0175 mgGAE/g ekstrak**

Lampiran 39. Hasil Uji Normalitas (Uji *liliefors*)

Hipotesis :

H_0 = data terdistribusi normal

H1 = data tidak terdistribusi normal

Kelompok/Formula	Kadar I	Kadar II	Kadar III
Ekstrak Etanol 95%	1,3433	1,402	1,4220
Fraksi n-heksana	1,2253	1,2604	1,2747
Fraksi Etil Asetat	2,9154	2,9562	3,0578
Fraksi Etanol-Air	1,1559	1,1674	1,1903

No	X	Z	F(z)	S (z)	|F(z)-S (z)|
1	1,1559	-0,6976	0,2427	0,0833	0,1594
2	1,1674	-0,6828	0,2474	0,1667	0,0807
3	1,1903	-0,6533	0,2568	0,2500	0,0068
4	1,2253	-0,6083	0,2715	0,3333	-0,0618
5	1,2604	-0,5630	0,2867	0,4167	-0,1300
6	1,2747	-0,5446	0,2930	0,5000	-0,2070
7	1,3433	-0,4563	0,3241	0,5833	-0,2592
8	1,402	-0,3807	0,3517	0,6667	-0,3149
9	1,4220	-0,3549	0,3613	0,7500	-0,3887
10	2,9154	1,5685	0,9416	0,8333	0,1083
11	2,9562	1,6211	0,9475	0,9167	0,0308
12	3,0578	1,7519	0,9601	1,0000	-0,0399

Rata-rata = 1,6976

Standar deviasi = 0,7764

L hitung = 0,1594

L tabel = 0,2420

Kesimpulan :

L hitung < L tabel = H_0 diterima (data terdistribusi normal)

Lampiran 40. Hasil Uji Homogenitas (*Levene's*)

Kriteria pengujian homogenitas :

p-value < 0,05 = data tidak homogen

p-value > 0,05 = data homogen

Kelompok/Formula	Kadar I	Kadar II	Kadar III
Ekstrak Etanol 95%	1,3433	1,402	1,4220
Fraksi n-heksana	1,2253	1,2604	1,2747
Fraksi Etil Asetat	2,9154	2,9562	3,0578
Fraksi Etanol-Air	1,1559	1,1674	1,1903

Assumption Checks

Test for Equality of Variances (Levene's)			
F	df1	df2	p
5.125	3.000	8.000	0.029

p-value < 0,05 = data tidak homogen

kesimpulan :

data yang diperoleh yaitu data tidak homogen, karena p-value < 0,05 atau (0,029 < 0,05)

Lampiran 41. Hasil Uji *Kruskal-Wallis*

Hipotesis :

H_0 = 4 Kelompok Uji memiliki nilai kadar fenolik total yang setara

H1 = 4 Kelompok Uji tidak memiliki nilai kadar fenolik total yang setara

p-value < 0,05 = ada perbedaan yang signifikan

p-value > 0,05 = tidak ada perbedaan yang signifikan

Kruskal-Wallis Test

Kruskal-Wallis Test			
Factor	Statistic	df	p
Pelarut	7.615	3	0.055

p-value > 0,05 = H_0 diterima

Kesimpulan :

Nilai kadar Ekstrak Etanol 95%, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Etanol-Air adalah tidak memiliki perbedaan yang signifikan.