

PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK PROPOLIS DALAM SEDIAAN KRIM JERAWAT TERHADAP PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Propionibacterium acnes*

Sitti Fauziah Noer, Farida
Program Studi Farmasi
FMIPA Universitas Islam Makassar

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian berjudul Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Propolis dalam Sediaan Krim Jerawat terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* yang bertujuan memformulasi ekstrak propolis menjadi sediaan krim jerawat dan menentukan konsentrasi efektif ekstrak propolis dalam krim jerawat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Metode penelitian ini menggunakan ekstrak propolis yang diperoleh melalui maserasi menggunakan cairan penyari etanol 70%, kemudian dirotavapor, ekstrak yang dihasilkan diformulasi menjadi krim jerawat dengan konsentrasi 1%, 2% dan 4%, pengujian daya hambat antimikroba dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram, dan pengukuran daerah hambatan menggunakan mistar geser. Hasil pengamatan dan analisis data statistik menunjukkan bahwa pengukuran diameter hambatan krim jerawat ekstrak propolis meningkat dengan peningkatan konsentrasi ekstrak propolis masing-masing 1%, 2% dan 4% adalah 6,55 mm, 8,31 mm, dan 11,03 mm, berdasarkan uji statistik ada pengaruh yang nyata perlakuan terhadap diameter daerah hambatan, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menghasilkan perbedaan yang nyata pada taraf 5% antara 3 konsentrasi ekstrak propolis 1%, 2%, dan 4% dengan kontrol positif, begitupun antara sediaan 1% dan 4%. Pada penelitian ini, konsentrasi efektif ekstrak propolis dalam krim jerawat yang dapat menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* adalah 1%.

Kata kunci : konsentrasi, ekstrak, krim, propolis, *Propionibacterium acnes*

PENDAHULUAN

Propolis adalah bahan perekat atau dempul yang bersifat resin yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari kuncup, kulit tumbuhan, atau bagian-bagian lain dari tumbuhan, yang digunakan untuk menambal lubang dalam sarang lebah yang sekaligus juga melindungi sarang lebah dari serangan virus, bakteri, dan jamur. Senyawa kimia utama dalam propolis terdiri atas senyawa golongan flavanoid dan berbagai senyawa aromatik. Propolis mengandung minyak terbang, terpen, dan lilin lebah (Dedi,S., 2009). Lem lebah ini berkhasiat untuk menurunkan tekanan darah tinggi, memperlancar air seni, anti bakteri, membunuh virus influenza, anti virus, anti tumor, ampuh untuk menyembuhkan luka, penyakit mulut dan membantu penyembuhan penyakit kulit (Dewi,R.W., 2009).

Propolis berkhasiat sebagai antibakterial dari alam yang berfungsi sebagai anti jerawat, telah dibuktikan lewat penelitian oleh Dr Jessie Pamudji di Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung membuktikan efek antibakteri propolis terhadap *S. aureus* dan *Propionibacterium acnes* karena propolis mengandung senyawa yang bersifat antimikroba yaitu galangin, asam kafeat, pinocembrin, dan asam ferulat (Rozy, 2010).

Salah satu penyebab jerawat adalah kurangnya kebersihan kulit dan banyaknya bakteri *Propionibacterium acnes* pada saluran kelenjar sebacea yang ikut serta dalam patogenesis jerawat dengan menghasilkan lipase yang memecahkan asam lemak bebas dari lipid kulit yang dapat menimbulkan radang jaringan dan jerawat (Tri,A.P., 2007). Prinsip pengobatan jerawat yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yang menghuni saluran kelenjar sebacea. Pemberian antibakterial merupakan tindakan yang bisa mengurangi populasi bakteri *Propionibacterium acnes* di dalam lemak sebum. Bentuk antibakterial yang diberikan berupa gel, larutan, salep, atau krim (Shinta,A.d., 2009). Penelitian yang dilakukan Nila pada tahun 2008 dapat diketahui bahwa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) propolis terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* adalah 0,1% v/v.

Berdasarkan hal tersebut di atas, untuk meningkatkan efektivitas dan kenyamanan dalam penggunaan propolis pada kulit sebagai anti jerawat, dilakukan formulasi propolis dalam sediaan krim, dan dilakukan pengujian daya hambat terhadap *Propionibacterium acnes*. Krim adalah sediaan setengah padat, berupa emulsi baik bertipe air dalam minyak atau minyak dalam air dengan penampilan tidak jernih dimaksudkan untuk pemakaian luar.

Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah yang timbul adalah:

- Apakah ekstrak propolis dapat diformulasi menjadi sediaan krim jerawat.
- Apakah perbedaan konsentrasi ekstrak propolis berpengaruh pada efektifitas krim jerawat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Berdasarkan perumusan masalah yang telah ditetapkan di atas, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Ekstrak propolis dapat dibuat krim jerawat
- Variasi konsentrasi ekstrak propolis krim jerawat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (all amerika), oven (fisher), inkubator (Mimmert), rotavapor (Hahnshin), laminary air flow (Enviroco), timbangan analitik (Chyo), mistar geser (rusfreig), cawan petri, tabung reaksi, ose bulat, labu erlenmeyer 100 ml, spoit 5 ml, bunsen, pinset, batang pengaduk, kompor listrik, lumpang, porselen, sudip, sendok tanduk dan wadah krim.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah propolis, *Propionibacterium acnes*, Fluid Thioglycollata Medium (FTM), agar, NaCl fisiologis 0,9%, air suling, alfa tokoferol, asam stearat, kertas cakram, etanol 70%, metil paraben, tween 60, propil paraben, parafin cair, propilenglikol, span 60, setil alkohol, aluminium foil, kapas, tisu, dan pot.

Sterilisasi Alat (Difco, 1980)

Alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven 180°C selama 2 jam. Alat-alat plastik yang tidak tahan terhadap pemanasan tinggi dan alat-alat gelas berskala disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 10-15 menit. Alat berupa ose, pinset disterilkan dengan cara pemijaran di atas api secara langsung sesaat sebelum digunakan.

Pengambilan sampel

Sampel propolis diperoleh dari Kec. Lawang, Kab. Malang, Jawa Timur.



Tabel 1: Rancangan formula Krim

Gambar 1. Padatan Propolis

Pengolahan sampel

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:10. Sampel propolis ditimbang sebanyak 150 gram dan dibersihkan dengan etanol 70%. Propolis yang telah dipecah menjadi potongan-potongan kecil diekstraksi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml, kemudian dimasukkan ke dalam wadah, diaduk dan ditutup. Lalu disimpan ditempat gelap selama tiga hari. Ulangi pengadukan sekali atau dua kali sehari. Setelah tiga hari cairan disaring dengan kertas penyaring lalu filtratnya diuapkan, dan ampasnya diulangi ekstraksi sebanyak dua kali. Lalu diuapkan dengan menggunakan rotavapor sehingga diperoleh ekstrak pekat.



Gambar 2. Ekstrak propolis

Pembuatan Krim

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Bahan ditimbang sesuai dengan perhitungan bahan. Dibuat dasar krim fase minyak dengan cara : asam stearat, setil alkohol, parafin cair, span 60 dan propil paraben dilebur pada suhu 70°C di atas tangas air. Suhu dipertahankan pada 70°C. Kemudian fase air dibuat dengan cara melarutkan metil paraben dalam air yang telah dipanaskan hingga suhu 70°C, kemudian ditambahkan tween 60 dan propilenglikol, suhu dipertahankan pada 70°C. Krim dibuat dengan cara menambahkan fase air sedikit demi sedikit secara terus-menerus ke dalam fase minyak sambil diaduk dengan pengaduk elektrik sampai terbentuk emulsi yang homogen. Kemudian dimasukkan ekstrak propolis sedikit demi sedikit digerus, dicampur dengan sedikit demi sedikit basis krim tipe M/A dalam mortir hingga homogen, ditambahkan alfa tokoferol. Dibuat formulasi II dan III menggunakan cara kerja yang sama dengan formulasi I. Rancangan formula dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Bahan	Kegunaan	Formula				
		I	II	III	(-)	(+)
Ekstrak propolis	Zat aktif	1%	2%	4%		2%
Asam stearat	Pengental	4%	4%	4%	4%	
Setil alkohol	Emolien	3%	3%	3%	3%	
Parafin cair	Emolien	5%	5%	5%	5%	
Propilenglikol	Humektan	10%	10%	10%	10%	
Tween 60 dan Span 60	Emulgator	3%	3%	3%	3%	
Metil paraben	Pengawet	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
Propil paraben	Pengawet	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%	
Alpha tokoferol	Antioksidan	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%	
Air suling ad	Pelarut	100%	100%	100%	100%	



Gambar 3. Sediaan krim propolis

A = Basis kontrol (-) C = Krim 2%
 B = Krim 1% D = Krim 4 %

Penyiapan Medium

Ditimbang 3 g medium FTM, kemudian dilarutkan dengan 100 ml air suling dipanaskan sampai berwarna pink, ditambahkan agar 1,5 g. kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Untuk inokulasi bakteri sebanyak 5 ml medium yang telah dipanaskan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, disumbat dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya diletakkan pada posisi miring dan dibiarkan sampai memadat.

Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Propionibacterium acnes* yang diperoleh dari stok sediaan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin.

1. Peremajaan Kultur Murni *Propionibacterium acnes*

Dari kultur murni *Propionibacterium acnes*, diambil 1 ose dan diinokulasi secara aseptis dengan cara digoreskan pada agar miring dari medium FTM, lalu diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Pembuatan Suspensi Murni *Propionibacterium acnes*

Bakteri uji hasil peremajaan disuspensikan dengan NaCl fisiologis 0,9% sampai diperoleh transmittan 25%T pada spektrofotometer.

Pembuatan Medium Uji

Dari suspensi murni *Propionibacterium acnes*, dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, digoyang, ditambahkan medium FTM agar sebanyak 15 ml, didiamkan sampai setengah padat.

Pengujian Daya Hambat

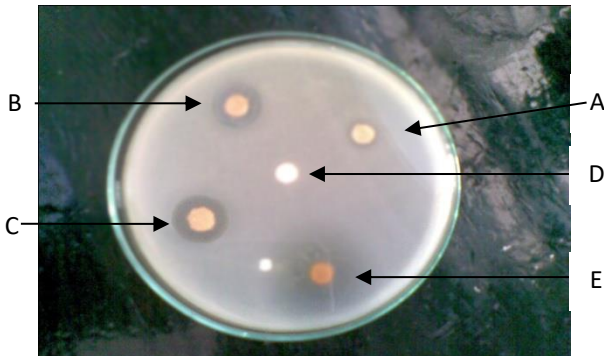
Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak propolis pada sediaan krim jerawat terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram. Pada ketiga krim yang telah diformulasi, kontrol negatif (zat tambahan), dan kontrol positif (ekstrak etanol 70%), dicelupkan kertas cakram, didiamkan selama kurang lebih 15 menit, kemudian diangkat dan dibiarkan sampai agak mengering selama kurang lebih 15 menit, kemudian diletakkan secara aseptis pada permukaan medium uji yang memadat, jarak antara piper disk dari tepi cawan petri sekitar 2-3 cm.

Cawan petri diberi label untuk membedakan sampel yang diuji. Kemudian diinkubasi dalam inkubator anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terjadi.

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Hambatan

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak propolis pada sediaan krim jerawat terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan

Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi 24 jam dan 48 jam. Diameter hambatan diukur dengan menggunakan jangka sorong.



Gambar 4. Zona hambatan ekstrak propolis pada sediaan krim

A = Krim 1%; B = Krim 2%; C = Krim 4%;
D = Krim kontrol (-); E = krim kontrol (+)

Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari pengukuran hambatan ditabulasi kemudian dirata-ratakan dan

Tabel 2: Hasil Diameter Hambatan Krim Propolis

Replikasi	Diameter Hambatan dengan Konsentrasi Ekstrak propolis (mm)				Jumlah
	1%	2%	4%	Kontrol (+)	
I	6,54	10,48	12,49	20,95	131,74
II	5,57	8,87	14,76	22,55	
III	7,55	5,57	5,84	10,56	
Jumlah	19,66	24,93	33,09	54,06	
Rata-rata	6,55	8,31	11,03	18,02	

Metode yang digunakan dalam proses pengujian daya hambat ini adalah metode difusi agar dengan tujuan untuk mengetahui besarnya diameter daerah hambatan yang terbentuk setelah masa inkubasi selama 1x24 jam yaitu metode pengujian dimana sampel akan berdifusi dari pencadangan ke medium agar. Dalam penelitian ini digunakan kertas cakram untuk memudahkan krim berdifusi ke dalam medium agar karena konsistensi krim yang berbentuk semi padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1% ekstrak propolis dalam sediaan krim dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter daerah hambatan rata-rata sebesar 6,55 mm, pada konsentrasi 2% sebesar 8,31 mm dan pada konsentrasi 4% sebesar 11,03 mm. Sementara itu daerah hambatan kontrol positif (ekstrak etanol propolis) sebesar 18,02 mm dan kontrol negatif tidak ada hambatan.

diolah dengan metode rancangan acak lengkap (RAL).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Formulasi krim yang mengandung bahan alam seperti propolis diawali dengan mengekstraksi senyawa aktif yang terkandung dalam propolis tersebut (tabel 1). Ekstraksi ini dimaksudkan untuk mengurangi volume bahan alam itu sendiri, menghilangkan zat-zat yang tidak di butuhkan, juga dari sisi penyimpanan dan pengangkutan ekstrak lebih efisien karena tidak membutuhkan ruang yang luas. Ekstraksi yang dipilih tergantung sifat simplisia (batang, daun, akar), kandungan zat aktifnya mudah menguap atau tidak, dll. Ekstraksi dilakukan secara maserasi atau secara dingin sehingga dalam proses ekstraksi tidak merusak komponen kimia dari propolis yang bersifat sebagai antibakteri yang rusak dengan pemanasan.

Sediaan krim dengan konsentrasi yang bervariasi dilanjutkan dengan pengujian daya hambat terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* setelah masa inkubasi 24 jam diperoleh hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Besar kecilnya daerah hambatan yang terbentuk karena adanya perbedaan konsentrasi ekstrak propolis yang terdapat pada masing-masing sediaan. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa atau zat aktif yang terdapat dalam krim propolis yang bersifat antibakteri. Dalam hal ini zat aktif yang dimaksud yaitu galangin, asam kafeat, pinocembrin dan asam ferulat.

Peningkatan konsentrasi umumnya diikuti dengan peningkatan diameter daerah hambatan sebagai mana disebutkan Pelczar dan Chan (1998), bahwa semakin tinggi konsentrasi zat antimikroba yang digunakan, maka semakin tinggi pula daya kemampuannya dalam mengendalikan mikroorganisme.

Berdasarkan hasil analisis statistik diperoleh hasil F hitung > F tabel pada taraf 5% yang artinya bahwa terdapat pengaruh yang nyata perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Setelah dilakukan Uji lanjutan Beda Nyata Terkecil (BNT) diperoleh hasil yang signifikan antara kontrol positif dengan sediaan krim 1%, 2%, dan 4% begitupun antara sediaan 1% dan 4% karena dipengaruhi oleh konsentrasi dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar daya hambatnya.

Konsentrasi ekstrak propolis yang efektif adalah konsentrasi 1% karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang masih dapat memperlihatkan aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistik dapat disimpulkan bahwa

- Ekstrak propolis dapat diformulasi menjadi sediaan krim.
- Konsentrasi ekstrak propolis pada sediaan krim jerawat yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* adalah 1%.

DAFTAR PUSTAKA

American Pharmaceutical Association. Washington D.C.

Ansel, H. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi Keempat. UI-Press. Jakarta. 513, 1117, 1118.

Dedi.S.2009. *Aktivitas Antibakteri Propolis Trigona spp. Pada dua Konsentrasi Berbeda Terhadap Cairan Rumen Sapi*. <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/12572/2/g09ds.pdf>, diakses Juni 2010.

Dewi R.W.2009. *Daya Anti Bakteri Ekstrak Lem Lebah (Propolis) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 6538 dan Escherichia coli ATCC 11229 Secara In Vitro*. <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/12572/2/G09dsu1.pdf>, diakses juni 2010.

Difco, 1980. *Cultur Media Handbook*, E Meck. Darmstad federal republik Of Germany. 124

Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 8, 10, 16.

Djide, M.N. & Sartini, 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Lembaga Penerbit Unhas. Makassar. 339-342

Dari pembahasan diatas maka diketahui bahwa krim III yang dibuat dengan konsentrasi emulgator surfaktan nonionik 3% adalah krim yang

Djide, N. 1991, *Metode Instrumental dalam Mikrobiologi Umum*. Fakultas MIPA UNHAS. Makassar. 34–35.

Djide, N. 2003. *Mikrobiologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA UNHAS. Makassar. 153

Kibbe, H, Arthur. 2000. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. third edition.

Lachman, L. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri II*. Edisi Ketiga. UI-Press. Jakarta. 1092.

M.S.Balsam dan Edward Sagarin. 1972. *Cosmetic Science And Technology*. Edisi 2 Vol 1. New York. London. Sydney. Toronto.

Murtidjo, B.A.1991. *Memelihara lebah Madu*, Kanisius. Yogyakarta. 27.

Nila, 2008. *Pengembangan Formula Krim Propolis Dan Minyak Lavender Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Propionibacterium acnes* <http://digilib.itb.ac.id>, Diakses 25 April 2010.

Rostamailis. 2005. *Perawatan Badan, Kulit, dan Rambut*. Rineka Cipta, Jakarta. 101,103,104, 110.

Rozy. 2010. *Propolis*. <http://etd.eprints.ums.ac.id/4371/1/J500050012.pdf>, Diakses 30 Maret 2010.

Sarwono. 2003. *Lebah Madu*, Agro Media Pustaka. Jakarta. 76.

Septi, I.T. 2009. *Formulasi Krim Obat Jerawat Minyak Atsiri Daun jeruk Nipis (Citrus aurantifolia, swingle) dan Uji Daya Antibakteri Secara in Vitro* (online) <http://etd.eprints.ums.ac.id/4371/1/K100040238.pdf> diakses 4 maret 2010

Shinta, A.D. 2009. *Cara Ampuh Mengobati Jerawat*. Buana Pustaka. Jakarta. 5, 59.

Suyudi.1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi penerbit Staf Pengajar Kedokteran. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta. 151, 165-175.

Tobo F, dkk., 2005. *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I (Ekstraksi Kimia Bahan Alam)*, F-MIPA UH, Makassar. 1, 84-85, 87.

Tri,A.P.2007. *Propionobacterium acnes*. <http://digilib.itb.ac.id/gdl.pdf>, Diakses 29 Maret 2010

paling stabil karena tidak mempengaruhi perubahan organoleptis (warna dan bau), tipe emulsi, volume kriming dan tetes terdispersi, serta

menunjukkan perubahan viskositas yang paling kecil.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak biji jintan hitam dapat dibuat dalam bentuk sediaan krim.
2. Hasil penelitian menunjukkan krim yang stabil pada semua konsentrasi..
3. Formula yang paling stabil adalah formula III dengan konsentrasi emulgator surfaktan polisorbitat 60 dan sorbitan 60 3%.

DAFTAR PUSTAKA

Anas Fauzi Rakhman, 2007, **Jintan Hitam, Penawar Rasa Sakit Dari Timur Tengah**, <http://www.medanbisnisonline.com>

Anief, Moh., 1993. **Farmasetika**, Gajah mada University Press, Yogyakarta.

Budi Imansyah S, 2008, **Biji Jintan Hitam Atasi Berbagai penyakit**, <http://www.berita-iptek.com>

Ensiklopedi bebas, 2008, **Jintan Hitam**, [http://ms.wikipedia.bahasaIndoneisa/jintan hitam](http://ms.wikipedia.bahasaIndoneisa/jintan%20hitam)

Eugene L. Parrot., 1997. **Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics**, Third

Edition, Borgess Publishing Company, Minneapolis.

Gennaro,L.C., 1989. **Remington's Pharmaceutical Science**. 18th Edition, Mack publishing Company, Eaaston-Pennsylvania

Hernani., 2002, **Tanaman Berkhasiat Antioksidan**, PT. Penebar Swadaya, Jakarta.

Lachman, L., Lieberman, H.A., Kaning, J., 1989. **Teori dan Praktek Farmasi Industri**. Oleh Siti Suyatmi, Lis Aisyah, Edisi III, Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Martin, Eric. W.,1971. **Dispensing Of Medition**. Edisi XVII, Mack Publishing Company, Easton Pannsylvania.

Reynold, J.E.F., 1089, **Martindale the Extra Pharmacopeia**, 28th Edition, The Pharmaceutical Press, London

Surtiningsih, 2005, **Cantik dengan Bahan Alami : Cara Mudah, Murah dan Aman untuk Mempercantik Kulit**. PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.

Susilo. 2006. **Analisis Kimia Kandungan Habbatussauda**. <http://habbat.com/madu>, Diakses 07 Agustus 2008.

