







**Open access article**

## AKTIVITAS RADICAL SCAVENGING MELALUI PENGHAMBATAN NITRIC OXIDE MADU HUTAN ASAL KOLAKA TIMUR PADA SEL MAKROFAG RAW 264.7

*Wild Forest Honey from East Kolaka Exhibits Radical Scavenging Activity and Inhibits Nitric Oxide Production in RAW 264.7 Macrophage Cells*

**Penulis / Author (s)**

Hariana <sup>1</sup> 	<sup>1</sup> Program Studi Magister Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia
Wahyuni <sup>1</sup> 	<sup>2</sup> Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia
Lidya Agriningsih Haruna <sup>2</sup> 	<sup>3</sup> Faculty of Pharmacy, Thammasat University, Thailand
La Ode Muhammad Julian Purnama <sup>3</sup> 	
Adryan Fristiohady <sup>1</sup> 	

*Koresponden* : Adryan Fristiohady<sup>1</sup> 

*e-mail korespondensi*: [adryanfristiohady@uho.ac.id](mailto:adryanfristiohady@uho.ac.id)

*Reviewed*: 31-03-2026

*Accepted*: 22-04-2026

*DOI*: <https://doi.org/10.32382/mf.v22i1.2105>

**ARTICLE INFO**
**ABSTRACT / ABSTRAK**
**Keywords:**

*Antiinflammatory;*  
*Antioxidant;*  
*Honey;*  
*In vitro;*  
*In vivo;*

**Kata Kunci**

*Antiinflamasi;*  
*Antioksidan;*  
*In Vivo;*  
*In Vitro;*  
*Madu;*

*Forest honey is a natural product rich in bioactive compounds, particularly phenolics and flavonoids, which contribute to its antioxidant and anti-inflammatory properties. East Kolaka, Southeast Sulawesi, is recognized as a potential source of forest honey; however, scientific data regarding its biological activity remain limited. This study aimed to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities of forest honey from East Kolaka using in vitro and in vivo approaches. Antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, and  $\beta$ -carotene bleaching assays, while anti-inflammatory activity was evaluated through inhibition of nitric oxide production in LPS-induced RAW 264.7 macrophage cells and a xylene-induced mouse ear edema model. The results demonstrated notable antioxidant activity, with  $IC_{50}$  values of  $68.16 \pm 1.18$  mg/L (DPPH),  $56.36 \pm 3.72$  mg/L (ABTS), and  $4.11 \pm 0.66$  mg/L (BCB). Additionally, the honey significantly suppressed nitric oxide production in vitro and reduced ear edema in vivo, with the highest dose showing comparable effectiveness to sodium diclofenac. These findings indicate that East Kolaka forest honey has promising potential for development as a functional food or nutraceutical derived from local natural resources*

Madu hutan merupakan produk alami yang kaya akan senyawa bioaktif, terutama fenolik dan flavonoid, yang berperan sebagai antioksidan dan

antiinflamasi. Kolaka Timur, Sulawesi Tenggara, dikenal sebagai salah satu daerah penghasil madu hutan, namun kajian ilmiah mengenai potensi biologisnya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan antiinflamasi madu hutan asal Kolaka Timur melalui pendekatan *in vitro* dan *in vivo*. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH, ABTS, dan  $\beta$ -carotene bleaching, sedangkan aktivitas antiinflamasi dievaluasi melalui penghambatan produksi *nitric oxide* pada sel makrofag RAW 264.7 serta model edema telinga mencit yang diinduksi *xylene*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 68.16 ± 1.18 mg/L (DPPH), 56.36 ± 3,72 mg/L (ABTS), dan 4.11 ± 0.66 mg/L (BCB). Selain itu, madu menunjukkan penghambatan signifikan terhadap produksi *nitric oxide* serta mampu menurunkan edema telinga mencit, dengan efektivitas dosis tertinggi yang sebanding dengan natrium diklofenak. Temuan ini menunjukkan potensi madu hutan Kolaka Timur untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional atau nutrasetika berbasis sumber daya lokal.

## PENDAHULUAN

Inflamasi dan stres oksidatif merupakan dua mekanisme biologis yang saling berhubungan dan berperan signifikan dalam perkembangan berbagai penyakit kronis, seperti gangguan kardiovaskular, kanker, penyakit neurodegeneratif, dan sindrom metabolik (1). Akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan sel melalui peroksidasi lipid, modifikasi protein, serta gangguan stabilitas DNA (Wilczynska et al., 2024). Peningkatan produksi *nitric oxide* (NO), terutama yang dihasilkan oleh enzim *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada makrofag yang teraktivasi, diketahui berperan penting dalam memperkuat respons inflamasi dan memperparah kerusakan jaringan (3). Oleh sebab itu, agen yang memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas sekaligus mampu menekan produksi NO berlebih dipandang berpotensi dalam pencegahan dan pengendalian penyakit yang berkaitan dengan inflamasi (Fristiody et al., 2025).

Makrofag merupakan sel utama dalam sistem pertahanan tubuh yang berperan penting dalam regulasi respons inflamasi melalui produksi berbagai mediator inflamasi (5). Sel makrofag murine RAW 264.7 secara luas digunakan sebagai model *in vitro* untuk mengkaji mekanisme inflamasi, khususnya dalam mengevaluasi produksi *nitric oxide* (NO) setelah induksi lipopolisakarida (LPS) (6). Pada pemodelan ini, penurunan kadar NO sering dijadikan indikator adanya aktivitas antiinflamasi karena berkaitan dengan penghambatan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) (5). Seiring dengan

meningkatnya minat terhadap terapi berbasis bahan alam, produk alami yang kaya akan senyawa bioaktif semakin banyak diteliti karena memiliki berbagai aktivitas biologis serta profil keamanan yang relatif lebih baik (7).

Madu merupakan bahan alami yang telah lama dikenal tidak hanya sebagai sumber nutrisi, tetapi juga memiliki beragam aktivitas farmakologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan mempercepat penyembuhan luka (8). Efek biologis madu terutama dipengaruhi oleh kandungan kimianya yang kompleks, meliputi asam fenolat, flavonoid, asam organik, enzim, vitamin, dan mineral (9). Sejumlah penelitian melaporkan bahwa potensi antioksidan dan antiinflamasi madu sangat dipengaruhi oleh perbedaan asal botani, kondisi geografis, iklim, serta spesies lebah penghasilnya (2,5). Madu hutan, khususnya, dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang lebih tinggi dibandingkan madu hasil budidaya, yang diduga berasal dari keanekaragaman sumber nektar serta minimnya perlakuan pascapanen (10,11).

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara dengan tingkat keanekaragaman hayati tertinggi di dunia, didukung oleh keberadaan hutan tropis yang luas dan kaya akan sumber flora penghasil nektar (12). Kolaka Timur di Sulawesi Tenggara merupakan salah satu wilayah yang memiliki ekosistem hutan alami yang mendukung produksi madu hutan dengan karakteristik fisikokimia dan aktivitas biologis yang unik (12). Meskipun demikian, kajian ilmiah yang mengulas aktivitas biologis madu hutan asal Kolaka Timur, khususnya terkait kemampuan menangkap radikal bebas dan menghambat produksi *nitric oxide* pada tingkat seluler, masih sangat terbatas.

Berdasarkan latar belakang tersebut, meskipun berbagai penelitian telah melaporkan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi madu, kajian yang secara spesifik mengintegrasikan evaluasi aktivitas antioksidan dengan mekanisme antiinflamasi melalui penghambatan *nitric oxide* (NO) baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada madu hutan asal Kolaka Timur masih sangat terbatas. Selain itu, karakteristik madu hutan dari wilayah ini yang dipengaruhi oleh keanekaragaman hayati lokal berpotensi menghasilkan profil bioaktivitas yang berbeda dibandingkan madu dari daerah lain, yang hingga saat ini belum banyak dilaporkan dalam konteks madu hutan Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan antiinflamasi madu hutan asal Kolaka Timur secara komprehensif melalui pendekatan *in vitro* dan *in vivo*, serta mengkaji potensi mekanisme antiinflamasi melalui penghambatan produksi *nitric oxide* (NO) pada sel makrofag RAW 264.7.

## METODE

### Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian laboratorium eksperimental. Penelitian ini melibatkan preparasi sampel madu hutan. Selanjutnya, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan antiinflamasi secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro* menggunakan tiga metode yaitu DPPH, ABTS, dan BCB untuk menentukan kapasitas peredaman radikal bebas dan perlindungan terhadap oksidasi. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan secara *in vitro* melalui metode menghambat produksi NO pada sel makrofag RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS). Pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vivo* dilakukan menggunakan model edema telinga mencit yang diinduksi *xylene*, untuk mengevaluasi kemampuan madu dalam menekan respon inflamasi akut. Hasil penelitian dianalisis berdasarkan nilai  $IC_{50}$  dan pengurangan ketebalan telinga pada model mencit. Seluruh rangkaian penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo dan analisis mekanisme molekuler terhadap penghambatan produksi NO menggunakan kultur sel makrofag RAW 264.7 di *Laboratory of Faculty of Pharmacy, Thammasat University, Thailand*.

## Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel madu hutan asal Desa Lamunde, Kecamatan Tinondo, Kabupaten Buton Provinsi Sulawesi Tenggara. Natrium diklofenak (phapros® Semarang, Indonesia). Asam asetat glasial ( $CH_3COOH$ ), asam askorbat, chloroform, natrium klorida (NaCl), natrium hidroksida. ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) (Sigma®). DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl-hydrate*), *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), Fetal Bovine Serum (FBS), sel RAW 264.7, larutan MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*), tripsin-EDTA, serta asam sulfat pekat. Etanol, dan aquadest (Onemed®, Indonesia). Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini *microplate reader* (Biorad iMark™).

## Preparasi sampel

Sampel madu ditimbang sebanyak 1gram, kemudian disonikasi (Elmazonik®, India) dengan 10 ml etanol 70% (Onemed®, Indonesia) selama 30 menit pada suhu ruang, Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena mampu mengekstraksi senyawa bioaktif semi-polar seperti fenolik dan flavonoid secara lebih efisien dibandingkan pelarut berbasis air. Setelah homogen, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan pelarut etanol sampai dengan tanda tera (sampel dengan konsentrasi 10.000 mg/L), disimpan pada suhu 2-4° celsius, untuk uji aktivitas selanjutnya (9).

## Aktivitas Antioksidan

### Metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil-hidrat*)

Aktivitas penangkap radikal bebas diuji menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dengan beberapa modifikasi dari metode yang telah dilaporkan sebelumnya. Larutan DPPH disiapkan dalam pelarut etanol dan dicampurkan dengan larutan sampel madu pada berbagai konsentrasi. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi gelap selama waktu tertentu hingga reaksi berlangsung sempurna. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Etanol digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase inhibisi dan nilai  $IC_{50}$ , dengan persentase inhibisi diperoleh melalui rumus perhitungan tertentu (13):

$$I\% = \left[ \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi bahan uji})}{\text{absorbansi kontrol}} \right] \times 100 \quad (1)$$

Keterangan: Absorbansi kontrol merupakan nilai absorbansi larutan DPPH tanpa penambahan sampel (kontrol negatif), sedangkan absorbansi bahan uji diperoleh dari campuran larutan ABTS dengan sampel pada berbagai konsentrasi.

#### Metode ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzotiazolin-6-sulfonat))

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) dilakukan dengan mengadaptasi metode Tongchai *et al.* (2024) dengan penyesuaian. Radikal ABTS<sup>•+</sup> dibentuk dengan mencampurkan larutan ABTS dan kalium persulfat yang masing-masing dilarutkan dalam akuades, kemudian diinkubasi

selama 12-16 jam dalam kondisi gelap hingga terbentuk radikal stabil. Larutan sampel madu pada berbagai konsentrasi (6,25-100 ppm) selanjutnya direaksikan dengan larutan ABTS dalam microplate 96 sumur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Akuades dan larutan ABTS digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 734 nm menggunakan *microplate reader* (Bio-Rad iMark™). Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus (13):

$$I\% = \left[ \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi bahan uji})}{\text{absorbansi kontrol}} \right] \times 100 \quad (2)$$

Keterangan: Absorbansi kontrol merupakan nilai absorbansi larutan ABTS tanpa penambahan sampel (kontrol negatif), sedangkan absorbansi bahan uji diperoleh dari campuran larutan ABTS dengan sampel pada berbagai konsentrasi.

#### Metode β-carotene bleaching (BCB)

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode β-carotene bleaching dilakukan dengan mengikuti prosedur yang telah dimodifikasi. Sistem emulsi β-karoten disiapkan dengan mencampurkan larutan β-karoten dalam kloroform, asam linoleat, dan Tween 40,

kemudian ditambahkan akuades hingga volume tertentu. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu 40°C. Larutan sampel madu ditambahkan ke dalam sistem emulsi tersebut, dan perubahan absorbansi diukur pada panjang gelombang 486 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Etanol digunakan sebagai kontrol, sedangkan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Pengukuran dilakukan pada menit ke-0 dan ke-120. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase penghambatan oksidasi β-karoten. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus (13):

$$\% = 100\% - \left[ \frac{(\text{absorbansi sampel } t_0 - \text{absorbansi sampel } t_{120})}{\text{absorbansi kontrol } t_0 - \text{absorbansi kontrol } t_{120}} \right] \times 100$$

Keterangan: Absorbansi kontrol merupakan nilai absorbansi larutan BCB tanpa penambahan sampel (kontrol negatif), sedangkan absorbansi bahan uji diperoleh dari campuran larutan BCB dengan sampel pada berbagai konsentrasi.

#### Aktivitas Antiinflamasi Uji viabilitas pada sel makrofag dengan metode MTT Assay

Sel RAW 264.7 ditanam pada 96-well plate dengan kepadatan  $2 \times 10^5$  sel/well (100 μL) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam atmosfer 5% CO<sub>2</sub>. Setelah masa inkubasi, media kultur dibuang dan sel dicuci dua kali menggunakan PBS. Selanjutnya, sel diberi perlakuan sampel madu hutan pada berbagai konsentrasi (3.91–500 mg/L) dalam media

DMEM lengkap dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Setelah inkubasi, larutan MTT (0.5 mg/mL dalam PBS) ditambahkan ke setiap well dan diinkubasi selama 4 jam hingga terbentuk kristal formazan berwarna ungu. Reaksi kemudian dihentikan dengan menambahkan larutan asam klorida-isopropanol 0.04 N untuk melarutkan kristal formazan. Absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 570 nm. Persentase viabilitas sel dihitung berdasarkan perbandingan nilai absorbansi sampel terhadap control menggunakan rumus (14):

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{absorbansi perlakuan}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Uji ini dilakukan untuk memastikan bahwa penurunan produksi *nitric oxide* tidak disebabkan

oleh efek sitotoksik terhadap sel.

#### Aktivitas Antiinflamasi Menggunakan Sel Makrofag RAW 264.7

Sel RAW 264.7 ditanam pada 96-well plate dengan kepadatan  $2 \times 10^5$  sel/well (100  $\mu$ L) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam atmosfer 5% CO<sub>2</sub>. Setelah masa inkubasi, media kultur dibuang dan sel dicuci dua kali menggunakan PBS. Sel kemudian diberi media DMEM yang mengandung lipopolisakarida (LPS, 1 mg/L) untuk merangsang produksi nitric oxide (NO), diikuti dengan penambahan sampel madu hutan pada berbagai konsentrasi (3.91–500 mg/L). Rentang konsentrasi ini dipilih untuk mengevaluasi respons dosis (dose–response) serta mengacu pada studi sebelumnya yang melaporkan aktivitas antiinflamasi bahan alam

pada sel RAW 264.7 dalam kisaran konsentrasi serupa (Garcia Diaz et al., 2022). Selain itu, pemilihan konsentrasi tersebut juga mempertimbangkan hasil uji sitotoksitas (MTT) yang menunjukkan bahwa sampel tidak bersifat toksik terhadap sel pada rentang konsentrasi tersebut. Setelah inkubasi selama 18–24 jam, supernatan diambil sebanyak 50  $\mu$ L dan dicampurkan dengan 50  $\mu$ L reagen Griess, yang terdiri atas 1% sulfanilamide dalam asam fosfat 2.5% dan 0.1% naphthylethylenediamine. Campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, kemudian absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 540 nm.

Konsentrasi nitrit ditentukan berdasarkan kurva standar NaNO<sub>2</sub>, sedangkan persentase inhibisi NO dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left( \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100. \quad (3)$$

Absorbansi kontrol diperoleh dari media yang diberi LPS dikurangi dengan media tanpa LPS, sementara absorbansi sampel dihitung dari media yang mengandung sampel + LPS dikurangi dengan media tanpa LPS (16).

#### Metode Efek Antiinflamasi Madu Hutan secara *In vivo* Menggunakan Model Edema Telinga Mencit

Pengujian antiinflamasi secara *in vivo* dilakukan menggunakan model edema telinga mencit yang diinduksi xylene dengan mengadaptasi metode yang dilaporkan oleh Fristiody et al. (2025) dengan beberapa penyesuaian. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Hewan Coba Universitas Halu Oleo dengan nomor 563a/UN29.20.1.2/PG/2025. Sebanyak 18 ekor mencit jantan galur BALB/c berusia 8–10 minggu dengan bobot tubuh 20–30 g digunakan dalam penelitian ini. Seluruh hewan dipelihara dalam kondisi laboratorium yang terkontrol, meliputi siklus terang-gelap selama 12 jam, suhu lingkungan  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , serta kelembapan relatif 60–70%. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*, dan sebelum perlakuan seluruh mencit diaklimatisasi selama sedikitnya tujuh hari. Pada hari ke-8, hewan uji dialokasikan secara acak ke dalam enam kelompok perlakuan menggunakan metode randomisasi sederhana untuk meminimalkan bias seleksi. Pengukuran parameter inflamasi dilakukan secara blinded, dimana peneliti yang melakukan pengukuran tidak mengetahui alokasi kelompok perlakuan masing-masing hewan uji. Kelompok kontrol normal tidak diberikan

induksi xylene, sedangkan kelompok kontrol negatif diberi Na-CMC 0,5% secara per oral. Kelompok kontrol positif menerima natrium diklofenak dengan dosis 0,2 mg, sementara tiga kelompok perlakuan lainnya masing-masing diberi madu hutan dengan dosis 25, 50, dan 100 mg/kg berat badan secara per oral. Induksi inflamasi dilakukan pada seluruh kelompok, kecuali kontrol normal, dengan cara mengaplikasikan 30  $\mu$ L xylene secara topikal pada bagian anterior telinga kanan untuk menimbulkan respons inflamasi lokal, sedangkan telinga kiri dibiarkan tanpa perlakuan dan digunakan sebagai kontrol internal. Ketebalan telinga kanan diukur menggunakan digital thickness gauge pada waktu sebelum induksi (menit ke-0) serta pada menit ke-15, 30, dan 45 setelah pemberian xylene. Derajat inflamasi dinyatakan dalam bentuk persentase dan dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Inflamasi} = [(Dt - D0) / D0] \times 100 \quad (4)$$

di mana Dt adalah ketebalan telinga pada setiap titik waktu dan D0 adalah ketebalan dasar sebelum induksi. Persentase penghambatan dihitung sebagai:

$$\% \text{ Penghambatan} = [(a - b) / a] \times 100 \quad (5)$$

di mana a adalah % peradangan pada kelompok tanpa perlakuan dan b adalah % peradangan pada kelompok perlakuan (17)

#### Pengolahan dan analisis data

Pengolahan dan analisis data dilakukan

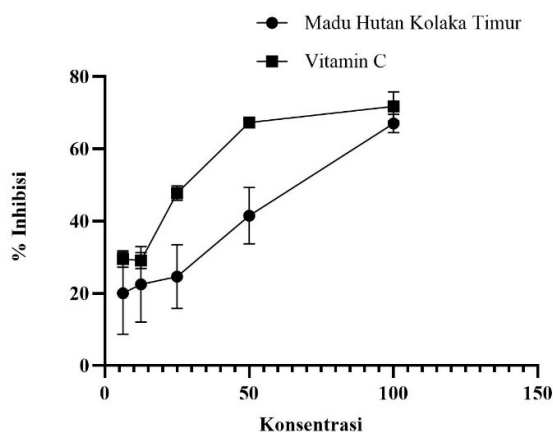
menggunakan IBM SPSS versi 29. Seluruh data disajikan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi (SD) dari tiga ulangan teknis (technical replicates,  $n = 3$ ). Sebelum dilakukan analisis statistik, data diuji normalitas dan homogenitas varians. Nilai  $IC_{50}$  pada uji antioksidan dan antiinflamasi in vitro dianalisis menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA), yang dilanjutkan dengan uji lanjut (post hoc) Bonferroni untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Data uji in vivo dianalisis menggunakan repeated measures ANOVA. Perbedaan antar kelompok dianggap signifikan pada  $p < 0,05$ .

## HASIL

### Aktivitas Antioksidan

#### Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil-hidrat)

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan untuk menilai kemampuan madu asal Kolaka Timur dalam meredam radikal bebas. Parameter  $IC_{50}$  dihitung untuk masing-masing sampel sebagai ukuran kekuatan aktivitas antioksidan. Nilai absorbansi pada berbagai tingkat konsentrasi ditampilkan pada Gambar 1, yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambatan aktivitas antioksidan. Penentuan nilai  $IC_{50}$  dilakukan melalui analisis regresi linier berdasarkan hubungan tersebut.

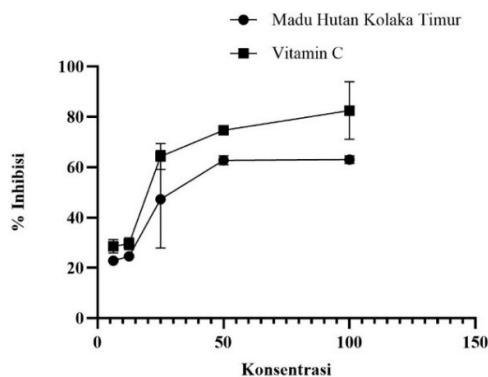


Gambar 1. Aktivitas penangkapan radikal bebas madu hutan Kolaka Timur dan vitamin C berdasarkan metode DPPH. Data disajikan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi ( $n = 3$ )

#### Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dengan ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat))

Pengujian menggunakan metode ABTS dilakukan untuk menilai kemampuan madu asal Kolaka Timur dalam menetralkan radikal kation

ABTS<sup>+</sup>. Aktivitas antioksidan dinyatakan berdasarkan nilai  $IC_{50}$ , di mana nilai yang lebih rendah mencerminkan potensi antioksidan yang lebih kuat. Ringkasan hasil pengujian disajikan pada Gambar 2

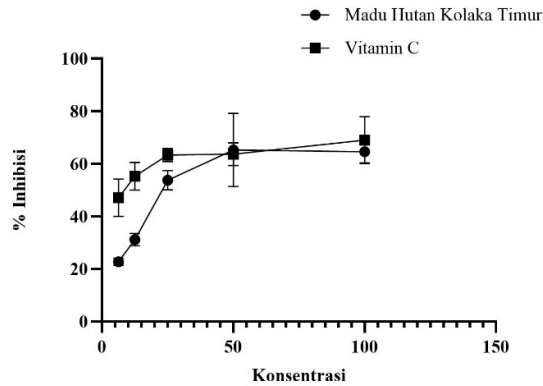


Gambar 2. Aktivitas penangkapan radikal kation ABTS<sup>+</sup> oleh madu hutan Kolaka Timur dibandingkan

vitamin C. Data disajikan sebagai rata-rata ± standar deviasi ( $n = 3$ ).

### Aktivitas Penghambatan Peroksidasi Lipid dengan Metode $\beta$ -Carotene Bleaching (BCB)

Aktivitas antioksidan madu asal Kolaka Timur berdasarkan metode  *$\beta$ -carotene bleaching* dievaluasi melalui kemampuannya dalam menghambat degradasi  $\beta$ -karoten selama proses oksidasi. Semakin tinggi persentase penghambatan yang dihasilkan menunjukkan kemampuan antioksidan yang semakin baik dalam mencegah peroksidasi lipid. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ini disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Aktivitas penghambatan peroksidasi lipid madu hutan Kolaka Timur dan vitamin C berdasarkan metode  *$\beta$ -carotene bleaching*. Data disajikan sebagai rata-rata ± standar deviasi ( $n = 3$ ).

### Aktivitas Antiinflamasi

#### Uji viabilitas pada sel makrofag dengan metode MTT Assay

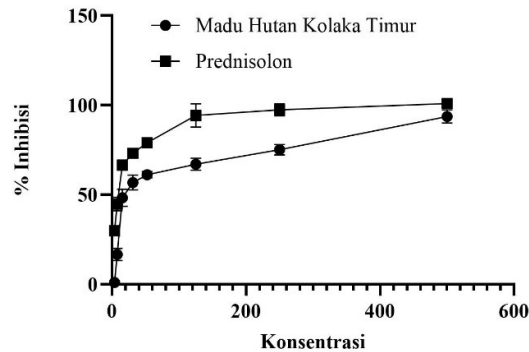
Tabel 1. Viabilitas sel RAW 264.7 setelah perlakuan dengan madu hutan asal Kolaka Timur yang ditentukan menggunakan metode uji MTT.

Konsentrasi (mg/L)	% viabilitas
	Madu Hutan Kolaka Timur
500	81.146
250	89.483
125	91.456
62,5	94.765
31,25	96.420
15,63	98.138
7,81	98.266
3,91	98.457

Hasil uji MTT menunjukkan bahwa viabilitas sel RAW 264.7 tetap berada di atas 80% pada seluruh konsentrasi uji, yang menunjukkan bahwa sampel tidak bersifat sitotoksik.

#### Aktivitas Antiinflamasi Menggunakan Sel Makrofag RAW 264.7

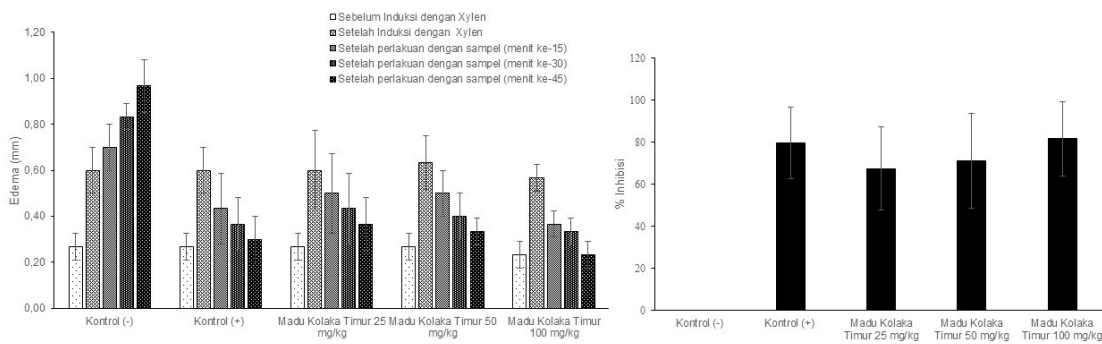
Uji antiinflamasi secara *in vitro* menggunakan sel makrofag RAW 264.7 dilakukan untuk menilai kemampuan madu hutan asal Kolaka Timur dalam menghambat produksi *nitric oxide* (NO) yang diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS). Data hasil pengujian disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Persentase Penghambatan Produksi NO oleh Madu Hutan Asal Kolaka Timur pada Sel Makrofag RAW 264.7.

### Metode Efek Antiinflamasi Madu Hutan secara *In Vivo* Menggunakan Model Edema Telinga Mencit

Model edema telinga diinduksi *xylene* digunakan untuk menguji aktivitas antiinflamasi madu Kolaka Timur secara *in vivo*. Penurunan berat telinga mencerminkan efek penghambatan inflamasi. Data hasil pengujian disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Ketebalan telinga kanan pada edema yang diinduksi *xylene* pada mencit. Data diukur pada menit ke-15, 30, dan 45. Data disajikan sebagai rata-rata (n=3).

### PEMBAHASAN

Madu hutan diketahui mengandung beragam senyawa bioaktif, antara lain senyawa fenolik, flavonoid, vitamin, dan enzim, yang berperan penting dalam aktivitas farmakologisnya, khususnya sebagai antioksidan dan antiinflamasi (9,11). Variasi komposisi senyawa tersebut sangat dipengaruhi oleh sumber nektar, kondisi geografis, serta lingkungan tempat madu diproduksi, sehingga berimplikasi langsung terhadap potensi biologinya (18). Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan madu hutan asal Kolaka Timur dievaluasi menggunakan tiga metode yang merepresentasikan mekanisme antioksidan yang berbeda, yaitu DPPH, ABTS, dan  $\beta$ -carotene bleaching (BCB). Penggunaan beberapa metode ini bertujuan untuk memperoleh gambaran yang

lebih komprehensif mengenai kapasitas antioksidan madu.

Hasil uji DPPH menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $68.16 \pm 1.18$  mg/L. Nilai ini menunjukkan kemampuan madu dalam mereduksi radikal bebas stabil DPPH melalui mekanisme donasi elektron atau atom hidrogen (13). Meskipun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan vitamin C sebagai kontrol positif, hasil ini tetap mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan yang nyata. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$ , semakin tinggi kemampuan suatu senyawa dalam menangkap radikal bebas (19). Aktivitas ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid dalam madu yang berperan sebagai donor elektron dan penstabil radikal bebas (13). Temuan ini sejalan dengan penelitian

Zulfa *et al.* (2021). Perbedaan aktivitas antioksidan pada metode DPPH juga dapat dipengaruhi oleh sifat spesifik radikal DPPH yang lebih selektif terhadap senyawa yang bersifat lipofilik. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi senyawa bioaktif dalam madu hutan Kolaka Timur kemungkinan didominasi oleh senyawa dengan kemampuan donasi hidrogen yang moderat. Selain itu, faktor asal botani dan kondisi lingkungan turut berkontribusi terhadap variasi kandungan fenolik, sehingga memengaruhi nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan yang teramati mencerminkan interaksi kompleks antara komposisi kimia madu dan mekanisme reaksi radikal bebas.

Pengujian menggunakan metode ABTS menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 56.36 ± 3.72 mg/L. Metode ABTS digunakan untuk menilai kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal kation ABTS<sup>+</sup>, baik pada senyawa hidrofilik maupun lipofilik (20). Aktivitas antioksidan yang diperoleh pada uji ini memperkuat hasil uji DPPH, menunjukkan bahwa madu memiliki kapasitas yang konsisten dalam menetralkan radikal bebas. Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh mengindikasikan bahwa madu hutan Kolaka Timur termasuk dalam kategori antioksidan sedang hingga kuat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Fristiohady *et al.* (2025) yang melaporkan bahwa madu hutan Konawe memiliki nilai IC<sub>50</sub> ABTS pada kisaran yang serupa. Jika dibandingkan dengan metode DPPH, nilai IC<sub>50</sub> pada metode ABTS cenderung lebih rendah, yang menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki kapasitas antioksidan yang lebih efektif dalam sistem radikal yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Perbedaan ini mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif dalam madu memiliki spektrum aktivitas yang luas dan mampu bekerja pada berbagai lingkungan reaksi. Selain itu, metode ABTS diketahui lebih sensitif dalam mendeteksi aktivitas antioksidan pada matriks kompleks seperti madu. Aktivitas ini dikaitkan dengan keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid yang mampu mereduksi radikal ABTS<sup>+</sup> melalui mekanisme transfer elektron (21).

Kemampuan madu dalam mencegah peroksidasi lipid dievaluasi melalui metode β-carotene bleaching (BCB). Hasil uji menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4.11 ± 0.66 mg/L, yang menandakan kemampuan yang tinggi dalam menghambat degradasi β-karoten akibat proses oksidasi. Metode ini mencerminkan efektivitas antioksidan dalam sistem emulsi lipid,

sehingga relevan untuk menilai potensi perlindungan terhadap kerusakan membran sel (22).

Aktivitas ini menunjukkan bahwa komponen antioksidan dalam madu tidak hanya efektif dalam sistem radikal bebas, tetapi juga mampu menghambat reaksi peroksidasi lipid. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa madu memiliki peran penting dalam melindungi struktur lipid dari kerusakan oksidatif (9). Nilai IC<sub>50</sub> yang jauh lebih rendah pada metode BCB dibandingkan metode DPPH dan ABTS menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki efektivitas yang lebih tinggi dalam sistem berbasis lipid. Hal ini disebabkan oleh mekanisme uji BCB yang mengevaluasi kemampuan antioksidan dalam menetralkan radikal peroksil pada fase lipid. Senyawa fenolik tertentu, khususnya yang bersifat lebih lipofilik, cenderung menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dalam sistem emulsi lipid, sehingga menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> yang lebih kecil. Dengan demikian, perbedaan nilai IC<sub>50</sub> antar metode mencerminkan perbedaan mekanisme aksi antioksidan, bukan inkonsistensi aktivitas.

Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT menunjukkan bahwa viabilitas sel tetap berada di atas 80% pada seluruh konsentrasi uji, sehingga penurunan produksi *nitric oxide* (NO) tidak disebabkan oleh efek toksik terhadap sel, melainkan mencerminkan aktivitas antiinflamasi yang sebenarnya. Evaluasi aktivitas antiinflamasi dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel makrofag RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS), suatu model yang umum digunakan untuk menilai kemampuan sampel dalam menghambat produksi NO (6). *Nitric oxide* merupakan salah satu mediator proinflamasi utama yang dihasilkan oleh makrofag teraktivasi dan berperan penting dalam proses inflamasi (23). Hasil penelitian menunjukkan bahwa madu hutan Kolaka Timur mampu menekan produksi NO secara signifikan pada sel RAW 264.7, yang mengindikasikan adanya aktivitas antiinflamasi melalui modulasi jalur inflamasi. Efek ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat menghambat ekspresi inducible nitric oxide synthase (iNOS) serta menekan pembentukan mediator inflamasi lainnya. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa madu mampu menurunkan produksi NO dan sitokin proinflamasi melalui penghambatan jalur NF-κB dan iNOS (3,24). Secara molekuler, penghambatan produksi NO oleh madu diduga terjadi melalui inhibisi aktivasi jalur NF-κB,

yang berperan dalam regulasi ekspresi gen proinflamasi, termasuk iNOS dan sitokin seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6. Penekanan jalur ini menyebabkan penurunan ekspresi iNOS sehingga produksi NO berkurang. Selain itu, aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik dalam madu juga berkontribusi dalam menurunkan stres oksidatif yang dapat memicu aktivasi jalur inflamasi. Oleh karena itu, aktivitas antiinflamasi madu tidak hanya bersifat langsung melalui inhibisi mediator, tetapi juga melalui modulasi jalur sinyal seluler.

Model inflamasi akut menggunakan *xylene* pada telinga mencit banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antiinflamasi suatu bahan uji. Aplikasi *xylene* secara topikal dapat memicu vasodilatasi, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, dan pembentukan edema sebagai respons inflamasi akut (25). Hasil penelitian menunjukkan bahwa madu hutan asal Kolaka Timur mampu menurunkan ketebalan telinga mencit secara signifikan pada menit ke-15, 30, dan 45 setelah induksi *xylene*. Efek penghambatan edema meningkat seiring dengan bertambahnya dosis madu, dengan respons tertinggi mendekati kontrol positif natrium diklofenak. Temuan ini mengindikasikan bahwa madu hutan Kolaka Timur memiliki potensi antiinflamasi, yang diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan dalam modulasi mediator inflamasi. Efek ini kemungkinan berkaitan dengan kemampuan madu dalam menghambat pelepasan mediator inflamasi seperti prostaglandin dan histamin yang berperan dalam peningkatan permeabilitas pembuluh darah. Selain itu, senyawa bioaktif dalam madu juga diduga berperan dalam menekan jalur COX-2 dan NF- $\kappa$ B, sehingga mengurangi respons inflamasi secara keseluruhan. Hal ini memperkuat keterkaitan antara hasil *in vitro* dan *in vivo* dalam penelitian ini.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada nilai IC<sub>50</sub> uji antioksidan (DPPH, ABTS, dan  $\beta$ -carotene bleaching) serta uji antiinflamasi *in vitro*, termasuk penghambatan produksi nitric oxide (NO) pada sel makrofag RAW 264.7, antar kelompok perlakuan. Kontrol positif secara konsisten memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang lebih rendah dibandingkan madu hutan asal Kolaka Timur, yang menunjukkan aktivitas biologis yang lebih kuat. Pada uji antiinflamasi *in vivo* menggunakan model edema telinga mencit, analisis repeated measures ANOVA menunjukkan bahwa madu hutan asal Kolaka Timur pada dosis tertinggi tidak berbeda signifikan secara statistik ( $p > 0,05$ ) dibandingkan kontrol positif natrium

diklofenak pada beberapa waktu pengamatan, yang mengindikasikan efektivitas antiinflamasi yang sebanding.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, madu hutan asal Kolaka Timur menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan pada uji DPPH, ABTS, dan  $\beta$ -carotene bleaching serta aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan produksi nitric oxide pada sel RAW 264.7 terinduksi LPS. Secara *in vivo*, madu hutan Kolaka Timur mampu menurunkan edema telinga mencit terinduksi *xylene* secara bermakna, dengan efek dosis tertinggi yang sebanding dengan natrium diklofenak. Aktivitas biologis tersebut diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid, sehingga madu hutan Kolaka Timur berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan dan antiinflamasi alami berbasis sumber daya lokal Sulawesi Tenggara.

## SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif madu hutan Kolaka Timur menggunakan teknik LC-MS guna memperoleh profil kimia yang lebih komprehensif. Selain itu, pengembangan formulasi yang tepat serta evaluasi stabilitas dan bioaktivitas produk perlu dilakukan untuk mendukung pemanfaatannya sebagai pangan fungsional atau nutrasetika berbasis sumber daya alam lokal.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi yang telah membiayai penelitian ini melalui skema Penelitian Pasca Sarjana - Penelitian Tesis Magister (PPS-PTM) Tahun 2025 dengan nomor kontrak induk: 068/C3/DT.05.00/PL/2025 dan nomor kontrak turunan: 07/UN29.20/PG/2025.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Fristiohady A, Wahyuni, Malik F, Frinane N, Ilyas M, Bafadal M, et al. Uji Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Etlingera elatior (Jack) R.M Smith dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah. 2020.
2. Wilczyńska A, Żak N. Polyphenols as the Main Compounds Influencing the

- Antioxidant Effect of Honey—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024. doi:10.3390/ijms251910606 PubMed PMID: 39408935.
3. Sukmawati, Musfiroh I, Muchtaridin, Fristiohady A, Ikram NKK. Anti-Inflammatory Activity of Quts Al-Hindi Extract (*Saussurea Lappa*) Using Erythrocyte Membrane Stability and Prediction of Its Selectivity for COX-2 and INOS Enzymes. *Journal of Hunan University Natural Sciences*. 2023;50(10). doi:10.55463/issn.1674-2974.50.10.3
  4. Fristiohady A, Ode Muhammad Fitrawan L, Subhiaty Idrus L, Wibawa Mahatva Yodha A. Potensi Radical Scavenging dan Aktivitas Anti-Inflamasi Melalui Penghambatan Nitric Oxide Dari Madu Hutan Asal Kabupaten Konawe. *J Sains dan Teknologi Pangan*. 2025;10(4):8670–884.
  5. Ranneh Y, Akim AM, Hamid HA, Khazaai H, Fadel A, Zakaria ZA, et al. Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. BioMed Central Ltd; 2021. doi:10.1186/s12906-020-03170-5 PubMed PMID: 33441127.
  6. Wu Z, Huang Y, Hu W, Ren L, Jiang P, Margolskee RF, et al. Lipopolysaccharide-induced inflammation increases nitric oxide production in taste buds. *Brain Behav Immun*. 2022 Jul 1;103:145–53. doi:10.1016/j.bbi.2022.04.016 PubMed PMID: 35447301.
  7. Hariana H, Wahyuni W, Irnawati I, Ode L, Fitrawan M, Munasari D, et al. Metabolite Profiling and Anti-Inflammatory Potential of East Kolaka Forest Honey: Targeting Protein Denaturation through GC-MS/MS Characterization. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia (JMPI)*. 2025;11(2):362–73. doi:10.35311/jmpi.v11i2.860
  8. Grabek-Lejko D, Worek M. Honeydew Honey as a Reservoir of Bacteria with Antibacterial and Probiotic Properties. *Antibiotics*. 2024 Sep 6;13(9):855. doi:10.3390/antibiotics13090855
  9. Hulea A, Obiștioiu D, Cocan I, Alexa E, Negrea M, Neacșu AG, et al. Diversity of Monofloral Honey Based on the Antimicrobial and Antioxidant Potential. *Antibiotics*. 2022 May 1;11(5). doi:10.3390/antibiotics11050595
  10. Alqarni AS, Owayss AA, Mahmoud AA, Hannan MA. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2014 Nov 1;18(5):618–25. doi:10.1016/j.jscs.2012.11.009
  11. Hariana, Fristiohady A. Tinjauan Farmakologi Madu: In Vitro dan In Vivo. 2025.
  12. BPS. Statistik Produksi Kehutanan. 2024.
  13. Tongchai P, Yadoung S, Sutan K, Kawichai S, Danmek K, Maitip J, et al. Antioxidant Capacity, Phytochemicals, Minerals, and Chemical Pollutants in Worker Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Broods from Northern Thailand: A Safe and Sustainable Food Source. *Foods*. 2024 Jul 1;13(13). doi:10.3390/foods13131998
  14. Purnama LOMJ, Witchitchan R, Fristiohady A, Uttarawichien T, Payuhakrit W, Asasutjarit R. Formulation development of thermoresponsive quercetin nanoemulgels and in vitro investigation of their inhibitory activity on vascular endothelial growth factor-A inducing neovascularization from the retinal pigment epithelial cells. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2024 Oct 1;100. doi:10.1016/j.jddst.2024.106005
  15. García Díaz J, Fernández RG, Escalona Arranz JC, Llauradó Maury G, Méndez Rodríguez D, De Vooght L, et al. Inhibitory Effect on Nitric Oxide Release in LPS-Stimulated Macrophages and Free Radical Scavenging Activity of Croton Linearis Jacq. Leaves. *Antioxidants*. 2022 Oct 1;11(10). doi:10.3390/antiox11101915
  16. Ruangnoo S, Jaiaree N, Makchuchit S, Panthong S, Thongdeeying P, Itharat A. Original article An in vitro inhibitory effect on RAW 264. 2012.
  17. Fristiohady A, Mahmud T, Nuralifah, Idrus LS, Purnama LOMJ, Haruna LA, et al. Anti-Inflammatory Activities of Lycopene on Xylene-Induced Ear Oedema in Mice and its In-Vitro Evaluation towards Protein Denaturation. *Res J Pharm Technol*. 2025;18(3):1052–7. doi:10.52711/0974-360X.2025.00151
  18. Zahra NN, Muliastari H, Andayani Y, Sudarma IM. Karakteristik fisikokimia ekstrak madu dan propolis trigona sp. Asal lombok utara. *Jurnal AGROTEK UMMAT*. 2021.
  19. Yodha AWM, Badia E, Musdalipah, Setiawan MA, Daud NS, Fusvita A, et al. Essential Oils of *Alpinia monopleura* and Their Antibacterial and Antioxidant

- Activity. *Molekul*. 2023;18(1):80–8. doi:10.20884/1.jm.2023.18.1.6265
20. Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011 Nov;24(7):1043–8. doi:10.1016/j.jfca.2011.01.008
  21. Wahyuni W, Grashella SHL, Fitriah WOI, Malaka MH, Fristiohady A, Imran I, et al. Antibacterial and antioxidant potentials of methanol extract and secondary metabolites from *Wualae* rhizome (*Etilingera elatior*). *Current Research on Biosciences and Biotechnology*. 2019 Aug 30;1(1):13–6. doi:10.5614/crbb.2019.1.1/IHHZ547
  22. Bereksi-Reguig D, Allali H, Taib N, Aissaoui N, Wlodarczyk-Stasiak M, Kowalski R. Bioactive Compounds, Antioxidant Properties, and Antimicrobial Profiling of a Range of West Algerian Honeys: In Vitro Comparative Screening Prior to Therapeutic Purpose. *Foods*. 2024 Dec 1;13(24). doi:10.3390/foods13244120
  23. Alina C, Florescu G, Stanciulescu EC, Berbecaru-Iovan A, Balasoiu RM, Pisoschi CG. Original Paper In vitro Assessment of Free Radical Scavenging Effect and Thermal Protein Denaturation Inhibition of Bee Venom for an Anti-Inflammatory Use. *Curr Health Sci J*. 2024;50(1). doi:10.12865/CHSJ.50.01.11
  24. Lawag IL, Islam MK, Sostaric T, Lim LY, Hammer K, Locher C. Antioxidant Activity and Phenolic Compound Identification and Quantification in Western Australian Honeys. *Antioxidants*. 2023 Jan 1;12(1). doi:10.3390/antiox12010189
  25. Hariana, Wahyuni, Idrus LS, Malik F, Purnama LOMJ, Fristiohady A. Eksplorasi Antioksidan dan Anti-Inflamasi Madu Hutan Pulau Buton Secara in-Vitro dan Efek Inhibisi Edema Telinga Secara in-Vivo. *Media Farmasi*. 2025 Jan 31;21(2):105–15. doi:10.32382/mf.v21i2.1633



*Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third-party material in this article are included in the article's Creative Commons license unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.*