

Kuantifikasi Mikroorganisme dan Kelayakan Konsumsi Madu Lokal yang Diperjualbelikan di Kabupaten TTS (Timor Tengah Selatan)

(Quantification of Microorganisms and Feasibility of Consumption of Local Honey Traded in TTS District (South Central Timor))

Catharina De Ricci Inye Bero^{1*}, Maxs U. E. Sanam², Diana A. Wuri³

¹Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

²Laboratorium Mikrobiologi dan Bakteriologi, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

³Bagian Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

*Korespondensi Email : inyabero04@gmail.com

ABSTRACT

Honey is a product of animal origin with a low water composition but rich in sugar content (fructose and glucose) which is produced through the fermentation process in honey bee hives. This study aims to look at the quantification of microorganisms and the physicochemical quality of local honey which is traded in TTS (South Central Timor) Regency. The testing technique was carried out using the TPC test for total bacterial contamination and total mold and yeast contamination, testing the physical properties of honey using heating and organoleptic testing, and testing the chemical properties of honey which included testing water content, sugar content and pH. The test was carried out on 8 honey samples taken from 3 honey-producing villages in TTS Regency, namely Loli Village, Tobaki Village, and Nenas Village. The results of the total bacteria, mold and yeast test showed that the average bacterial contamination in honey was 7.24×10^5 and the average mold and yeast contamination was 30.31×10^5 , where these results exceeded the contamination limit according to SNI No.7388:2009, namely the total contamination. bacteria $< 5 \times 10^3$ colonies/g and total mold and yeast contamination $< 1 \times 10^1$ colony/g. The physico-chemical properties test was carried out to find that the physical properties of honey were not in accordance with the SNI No.01-3545-2013 and SNI No.8664:2018.

Keywords : *Bacteria; honey; mold and yeast*

PENDAHULUAN

Madu merupakan produk asal hewan dengan komposisi air yang rendah namun kaya akan kandungan gula (fruktosa dan glukosa) yang dihasilkan melalui proses fermentasi

pada sarang lebah madu (Silva *et al.*, 2017). Lebah madu membuat madu setelah memakan nektar pada bunga, kemudian dicampurkan bersama senyawa spesifik dari lebah madu,

nektar yang telah tercampur disimpan oleh lebah madu di sarang hingga matang seiring berjalannya waktu. Komposisi dari madu berupa glukosa, sukrosa, dan fruktosa, yang merupakan 80% dari total beratnya, dengan air sebesar 20%. Madu juga mengandung, vitamin, flavonoid, asam amino, enzim, mineral, dan asam fenolik (Almasaudi, 2021).

Madu mengandung antioksidan enzimatik dan nonenzimatik dalam jumlah yang banyak, sehingga madu dapat mencegah reaksi oksidasi yang merugikan pada makanan. Antioksidan enzimatik sendiri merupakan antioksidan yang berasal dari reaksi oleh enzim, salah satunya adalah Hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan desinfektan dan oksidator kuat (Ali, 2004), sehingga membuat madu memiliki efek antibakteri. Antioksidan non enzimatik merupakan antioksidan yang terbentuk tanpa bantuan dari enzim seperti kandungan gula yang tinggi, pH yang rendah, dan aktivitas air rendah (Tewari dan Irudayaraj, 2004).

Pada madu hanya bakteri patogen, khamir, dan kapang yang mampu bersporulasi yang dapat bertahan dalam madu, akan tetapi tidak memiliki kapasitas reproduksi atau sel vegetatif, contoh dari khamir, kapang, dan bakteri yang dapat mencemari madu antara lain *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus proliferans*, *Aspergillus spelunceus*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium*

cladosporioides, *Daldinia concentrica*, *Emericella discophora*, *Emericella qinqixianii*, *Penicillium corylophilum*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium decumbens*, dan *Penicillium echinulatum* (Silva *et al.*, 2017), serta bakteri dari genus *Bacillus sp* (khususnya *B. cereus* dan *B. Pumilus*), *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Enterococcus.sp*, *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas spp* (Pucciarelli *et al.*, 2014). Khamir yang dapat mengkontaminasi madu dan merupakan bahaya utama bagi industri madu dikarenakan khamir dapat bertumbuh pada kondisi asam dan pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh sukrosa (toleran terhadap gula/autofilik) (Snowdon dan Cliver, 1996).

Kontaminasi madu terjadi melalui beberapa sumber seperti sumber primer dan sekunder. Sumber primer meliputi semua organisme yang berada di sekitar madu seperti lebah madu, nektar, sarang lebah, bunga, dan tanah, sedangkan sumber sekunder meliputi semua kegiatan yang dapat mencemari madu dari luar seperti manusia yang bertugas memanen madu (kebersihan tubuh dan pakaian yang digunakan), peralatan panen, wadah, angin, debu, serangga, hewan, dan air (Snowdon dan Cliver, 1996). Kontaminasi tersebut telah diatur di dalam SNI No.7388:2009 mengenai batas cemaran mikroba pada madu, yaitu dengan minimal ALT (Angka Lempeng Total) $<5 \times 10^3$ koloni/g, kapang dan khamir $<1 \times 10^1$ koloni/g.

Penentuan kualitas madu dapat dilakukan dengan pengujian fisik madu dan pengujian kimia madu,

yang telah diatur dalam SNI No. 8664:2018, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisikokimia madu menurut SNI NO.8664:2018

Sifat Fisik Madu	SNI
Warna	Coklat pekat
Kekentalan	Saat ditarik tidak mudah putus
Bau	Khas madu
Rasa	Khas madu
Kadar air	Maks 22% b/b
Gula pereduksi (glukosa)	Min 65% b/b
pH	3,4-4,5

Dengan dilakukan pengujian terhadap fisikokimia madu dapat memberikan informasi penting kepada masyarakat dalam menilai keaslian dari madu menggunakan indera penglihatan, perasa dan juga pembau sebelum membeli madu. Tujuan penelitian ini adalah untuk

mengetahui kualitas madu yang dikonsumsi dengan cara melihat total cemaran mikroorganisme dan kualitas fisikokimia madu lokal yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS (Timor Tengah Selatan) apakah sesuai dengan SNI.

MATERI DAN METODE

Sampel yang digunakan sebanyak, 8 sampel madu yang diambil dari 3 desa berbeda di Kabupaten TTS yaitu Desa Nenas, Desa Polen, dan Desa Fatumnasi. Bahan kimia terdiri atas aquades, pengencer *Buffered Peptone Water* (BPW), larutan pepton 0,1% , media umum PCA (*Plate Count Agar*), media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*). Metode yang digunakan dalam penanaman bakteri, kapang dan khamir adalah metode TPC dengan menggunakan model perhitungan ALT (Angka Lempeng Total) untuk menghitung total cemaran bakteri dan AKK (Angka Kapang dan Khamir)

untuk menghitung total cemaran kapang dan khamir.

Penjaminan kualitas dan keaslian madu dapat dilakukan dengan melakukan uji fisikokimia. Uji fisik merupakan uji yang dapat dilakukan oleh masyarakat untuk memastikan keaslian madu tanpa melalui pengujian dilaboratorium, pengujian ini terdiri atas uji pemansan yang dilakukan dengan cara, 2 ml madu dipanaskan selama 2 menit diatas bunsen, Madu yang tidak segera meluber (tidak tumpah dari sendok) diberi nilai 1 (madu tidak murni), jika terbentuk busa dan meluber namun tidak sampai tumpah dari sendok diberi nilai 2 (madu diberi

campuran zat lain seperti air atau gula) dan jika madu terbentuk busa dan meluber (tumpah dari sendok) maka diberi nilai 3 (madu murni) serta uji organoleptik berupa uji terhadap aroma (aroma khas madu), warna (coklat pekat), dan kekentalan madu (kental dan saat ditarik tidak

mudah putus). Uji kimia madu terbagi atas pengujian kadar gula menggunakan refraktometer, pengujian pH menggunakan pH meter dan pengujian kadar air menggunakan rumus (Sudaryanto, 2010):

$$\text{Kadar Air} = \left(\frac{(B-A)}{(B)} \times 100\% \right)$$

Keterangan:

A: Berat cawan porselin

B: Berat tetap cawan porselin dan madu/sampel (sebelum dipanaskan).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Sifat Fisik Madu

Uji pemanasan

Uji pemanasan merupakan sebuah pengujian tradisional terhadap keaslian madu yang biasa dilakukan oleh masyarakat dan telah divalidasi oleh sebuah penelitian. Uji pemanasan yang dilakukan oleh sulistyono *et al* (2019) didapatkan dari 5 sampel yang diuji menggunakan uji pemanasan hanya 2 sampel yang memberikan respon mengeluarkan buih, meluber dan tumpah sedangkan 3 sampel lainnya hanya memberikan respon mengeluarkan buih. Madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS, semua madu mengeluarkan buih, meluber dan tumpah. Respon meluber atau tumpahnya madu terjadi karena saat dilakukannya pemanasan kadar air dalam madu akan berkurang, protein akan terdenaturasi, dan terjadi penurunan tegangan permukaan sehingga terbentuklah buih yang menyebabkan madu dapat

tumpah dari sendok, hal ini dapat mengindikasikan adanya kandungan gula pada madu asli (Prabowo *et al.*, 2019).

Uji organoleptik

Pengujian organoleptik yang dilakukan meliputi pengujian terhadap bau, warna, dan tingkat kekentalan madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS memiliki perbedaan dengan SNI No.8664:2018, dengan presentasi uji organoleptik madu dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pengujian organoleptik, madu yang diperjualbelikan di Kabupaten Timor Tengah Selatan pada umumnya atau 48,3% memiliki aroma khas madu namun tidak terlalu kuat, hal ini dapat terjadi dikarenakan pengemasan pada madu di Kabupaten TTS umumnya menggunakan botol bekas minuman kemasan yang mungkin tidak dicuci terlebih dahulu atau jika dicuci namun tidak terlalu

bersih sehingga saat dilakukannya pengujian aroma, aroma yang tercium adalah aroma khas madu bercampur

dengan aroma botol penyimpanan madu.

Tabel 2. Organoleptik madu asal TTS

Range	Presentasi uji organoleptik madu		
	Aroma (%)	Warna (%)	Kekentalan (%)
1	33,9	12,5	14,2
2	48,3	39,2	46,6
3	17,8	48,3	39,2

Keterangan:

1 : Madu Tidak asli

2 : Madu asli dengan kualitas yang kurang baik

3 : Madu asli dengan kualitas sesuai SNI

Pengujian warna yang dilakukan didapatkan madu di Kabupaten TTS memiliki warna coklat pekat/gelap sebanyak 48,3%, hal ini dapat membuktikan bahwa madu yang diperjualbelikan termasuk dalam kategori madu yang telah matang (Elleazu *et al.*, 2013). Madu dengan warna yang lebih gelap mempunyai flavor yang lebih kuat dibandingkan madu yang berwarna terang dimana madu yang berwarna terang umumnya mempunyai rasa yang kurang enak. Warna juga dapat menjadi indikator mutu karena madu yang berwarna semakin gelap mengindikasikan penyimpanannya dalam suhu yang tinggi.

Pengujian kekentalan yang dilakukan diperoleh hasil sebesar 46,6% madu yang diperjualbelikan saat dituang turun secara perlahan, namun terlihat tidak kental dan cepat putus jika menyentuh gelas atau jika di tarik, sedangkan 39,2% menyatakan madu yang dituangkan turun sangat perlahan, terlihat sangat

kental dan tidak mudah putus walaupun sudah di tarik. Menurut rosita (2007) kekentalan madu menjadi petunjuk kualitas madu, kekentalan yang tinggi disebabkan oleh rendahnya kadar air. Sample madu yang digunakan dalam penelitian ini dipanen pada musim penghujan yaitu pada bulan Desember dengan kelembaban Kabupaten TTS yang cukup tinggi, berkisar antara 80-92%, ketika madu dipanen pada kondisi kelembaban yang tinggi maka, akan mengakibatkan kadar air pada madu lebih tinggi dibandingkan madu yang dipanen pada musim panas, hal ini terjadi karena madu memiliki sifat higroskopis yang akan menarik embun hingga mencapai kesetimbangan. Waktu panen yang terjadi pada musim hujan dengan tingkat kelembapan yang tinggi membuat madu memiliki lebih banyak kadar air dibandingkan dengan madu yang dipanen saat musim panas, walaupun masih dalam

kadar normal (Bognadov, 2009 dan Evahelda *et al.*, 2017).

Pengujian Sifat Kimia Madu

Pengujian kadar air

Hasil pengujian yang didapatkan, rata-rata kadar air madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS sebesar 17,7% (Tabel 3). Menurut SNI No.8664:2018 kadar air pada madu tidak boleh lebih dari 22%, hal ini dikarenakan Kadar air pada madu sangat berpengaruh terhadap kualitas dari madu itu sendiri

(Bognadov, 2009 dan Rosita, 2007). Kadar air pada madu dapat dipengaruhi oleh faktor iklim, penanganan pasca panen, jenis nektar yang dikumpulkan dan tingkat kematangan madu (Baroni *et al.*, 2009). Kadar air yang dimiliki oleh madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS masih masuk ke dalam batas normal rata-rata kadar air madu menurut SNI No.8664:2018 yaitu 17%.

Tabel 3. Kadar air pada madu asal TTS

Asal Daerah Penghasil Madu	Kadar Air (%)
Nenas 1	15,5
Nenas 2	16,5
Polen 1	15,5
Polen 2	21
Polen 3	20,8
Fatumnasi 1	17,5
Fatumnasi 2	19,5
Fatumnasi 3	15,5
Rata-rata	17,7

Pengujian kadar gula

Pengujian kadar gula yang dilakukan mendapatkan rata-rata kadar gula madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS sebesar 73% yang masih masuk kedalam SNI No.8664:2018. Kadar gula dari setiap daerah dapat dilihat pada Tabel 4.

Menurut Standar Nasional Indonesia No.8664:2018 standar minimum kandungan gula pada madu sebesar 65%, sehingga madu yang diperjualbelikan di kabupaten TTS dengan rata-rata kandungan gula sebesar 73,12% dapat dikatakan

sebagai madu dengan kadar gula yang sesuai dengan SNI.

Pengujian pH

Hasil pengujian pH yang dilakukan mendapatkan rata-rata pH madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS sebesar 4,2 (Tabel 5).

pH normal pada madu berkisar antara 3,4 hingga 4,5 (Gulfranz *et al.*, 2010). pH yang rendah pada madu merupakan salah satu faktor penghambatan pertumbuhan mikroorganisme berbahaya pada madu (Puspita, 2007). Oleh karenanya madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS

dapat dikatakan sebagai madu yang baik dengan rata-rata pH 4,2.

Tabel 4. Kadar gula pada madu asal TTS

Asal Daerah Penghasil Madu	Kadar Gula %
Nenas 1	75
Nenas 2	74,5
Polen 1	74,5
Polen 2	70
Polen 3	70
Fatumnasi 1	74,5
Fatumnasi 2	70,5
Fatumnasi 3	75
Rata-rata	73

Tabel 5. pH madu asal TTS

Asal Daerah Penghasil Madu	pH
Nenas 1	4,2
Nenas 2	4,0
Polen 1	4,4
Polen 2	4,2
Polen 3	4,2
Fatumnasi 1	4,3
Fatumnasi 2	3,9
Fatumnasi 3	4,4
Rata-rata	4,2

Kontaminasi Bakteri Pada Madu

Pengujian yang dilakukan diperoleh total cemaran bakteri pada madu dengan rata-rata cemaran sebesar $7,24 \times 10^5$ yang berarti total cemaran bakteri pada madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS tidak sesuai dengan SNI No7388:2009 (Tabel 5).

Menurut SNI No.7388:2009 batas cemaran bakteri pada madu dengan model perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) adalah $<5 \times 10^3$ koloni/gram, namun pada penelitian yang dilakukan didapatkan semua madu dari masing-masing daerah penghasil madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS

tidak memenuhi SNI tersebut. Walaupun dalam perhitungan yang dilakukan (lampiran 8) jumlah dari bakteri masih dapat dihitung dalam ranges 25-225 koloni/gram menurut standar dari PPOM (2006).

Madu sendiri dapat terkontaminasi oleh bakteri melalui sumber primer dan sekunder. Sumber primer berkaitan dengan saluran pencernaan lebah madu yang memiliki mikroorganisme alami serta dari sumber pengumpulan bahan pembuatan madu seperti nektar, polen, propolis, udara, bunga, dan lingkungan di dalam maupun sekitar sarang lebah yang telah terkontaminasi, contoh

mikroorganisme yang dapat mencemari madu melalui sumber primer yaitu *Bacillus* pembentuk spora aerob, mikroba ini paling sering ditemui di permukaan luar tanaman dan usus lebah madu. Bakteri yang mampu bersporulasi ditemukan pada madu yang diolah yaitu *Clostridium botulinum* dan *Bacillus* sp. Sumber

sekunder kontaminasi meliputi semua kegiatan yang dapat mencemari madu dari luar seperti manusia yang bertugas memanen madu (kebersihan tubuh dan pakaian yang digunakan), peralatan panen, wadah, angin, debu, serangga, hewan, dan air (Al-Waili *et al.*, 2012 dan Snowdon and Cliver, 1996).

Tabel 6. Rata-rata Angka Lempeng Total (ALT) madu asal TTS

Sampel	ALT (Koloni/gram)
Nenas 1	$5,04 \times 10^5$
Nenas 2	$6,04 \times 10^5$
Fatumnasi 1	$6,91 \times 10^5$
Fatumnasi 2	$8,23 \times 10^5$
Fatumnasi 3	$5,27 \times 10^5$
Polen 1	$7,18 \times 10^5$
Polen 2	$10,04 \times 10^5$
Polen 3	$9,27 \times 10^5$
Rata-rata	$7,24 \times 10^5$

Kontaminasi yang terlihat nyata dari madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS adalah kontaminasi sumber sekunder, hal ini dapat terjadi dikarenakan madu masi dipanen menggunakan cara dan peralatan tradisional, dari hasil wawancara sederhana yang dilakukan oleh peneliti didapati bahwa proses panen madu dilakukan secara manual dan tradisional tanpa memperhatikan kebersihan dari alat panen, wadah penyimpanan madu, maupun tangan yang digunakan untuk memeras madu dari sarangnya. Penjualan yang dilakukan dengan memindahkan madu dari wadah besar ke botol-botol kecil bekas minuman kemasan turut menjadi sumber kontaminasi madu, sumber nektar dan

kesehatan lebah madu yang tidak diawasi juga turut menjadi sumber cemaran primer bagi madu. Cemaran bakteri pada madu juga terbagi atas bakteri merugikan maupun bakteri yang tidak merugikan atau biasa dikatakan sebagai probiotik yang membantu metabolisme tubuh, contohnya adalah bakteri *Gluconobacter oxydans* (Silva *et al.*, 2017).

Kontaminasi Kapang dan Khamir Pada Madu

Pengujian kapang dan khamir yang dilakukan mendapatkan hasil cemaran yang sangat tinggi dibandingkan dengan SNI No7388:2009 (Tabel 6). Menurut SNI No.7388:2009 batas cemaran kapang dan khamir pada madu dengan model

perhitungan Angka Kapang dan Khamir (AKK) adalah $<1 \times 10^1$ koloni/gram, namun pada penelitian yang dilakukan didapati bahwa semua madu dari masing-masing daerah penghasil madu yang diperjualbelikan di kabupaten TTS

tidak memenuhi SNI, walaupun dalam perhitungan yang dilakukan jumlah dari kapang dan khamir masih dapat dihitung dalam ranges 10-150 koloni/gram menurut standar dari PPOM (2006).

Tabel 7. Rata-rata Angka Kapang dan Khamir (AKK) pada madu asal TTS

Sampel	AKK (koloni/gram)
Nenas 1	24×10^5
Nenas 2	$19,5 \times 10^5$
Fatumnasi 1	$8,5 \times 10^5$
Fatumnasi 2	$35,5 \times 10^5$
Fatumnasi 3	43×10^5
Polen 1	17×10^5
Polen 2	$48,5 \times 10^5$
Polen 3	$46,5 \times 10^5$
Rata-rata	$30,31 \times 10^5$

Madu dapat terkontaminasi oleh kapang dan khamir melalui sumber primer dan sekunder. Sumber primer biasanya dikaitkan dengan isi dari usus lebah madu, sarang, dan lingkungan tempat lebah mencari makan. *Aspergillus* merupakan jamur yang telah ditemukan dari usus larva lebah madu, sedangkan khamir biasanya memiliki ketahanan terhadap kondisi asam dan pertumbuhannya tidak dihambat oleh sukrosa. Khamir yang memiliki sifat osmofilik atau dapat tubuh pada daerah dengan kandungan air yang minim membuat khamir dapat dengan mudah mengkontaminasi dan bertumbuh dalam madu bahkan madu yang telah matang, walaupun tidak memiliki sel vegetatif untuk berkembang biak, contoh dari khamir yang dapat mengkontaminasi madu

adalah *Saccharomyces*. Sumber sekunder kontaminasi madu meliputi semua kegiatan yang dapat mencemari madu dari luar seperti manusia yang bertugas memanen madu (kebersihan tubuh dan pakaian yang digunakan), peralatan panen, wadah, angin, debu, serangga, hewan, dan air (Snowdon and Cliver., 1996 dan CM *et al.*, 2010).

Kontaminasi yang terlihat nyata dari madu yang diperjualbelikan di Kabupaten TTS adalah kontaminasi sumber sekunder, dimana dari hasil wawancara sederhana yang dilakukan oleh peneliti didapati bahwa proses panen madu dilakukan secara manual dan tradisional tanpa memperhatikan kebersihan dari alat panen, wadah penyimpanan madu, maupun tangan yang digunakan untuk memeras madu

dari sarangnya. Penjualan yang dilakukan dengan memindahkan madu dari wadah besar ke botol-botol

kecil bekas minuman kemasan yang turut menjadi sumber kontaminasi madu.

KESIMPULAN

Madu yang diperjualbelikan di kabupaten TTS merupakan madu asli yang dapat dibuktikan dengan pengujian sifat kimia, namun tidak memiliki kualitas fisik yang baik.

Madu ini juga dapat dikatakan sebagai madu yang tidak layak konsumsi karena memiliki cemaran mikroorganisme yang melebihi SNI NO.7388:2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R.Z. 2018, Medium tapioka untuk preservasi kapang yang bermanfaat untuk veteriner. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 2(1), 1-6.
- Alexopoulos, C.J., Mims C.W. and Blackwell, M. 1996, *Introductory to Mycology*. 4th Ed. JOHN WILEY and SONS. INC., New York-Chichester-Brisbane-Toronto-Singapore.
- Almasaudi, S. 2021, The antibacterial activities of honey. *Saudi journal of biological sciences*, 28(4), 2188.
- Al-Waili, N., Salom, K., Al-Ghamdi, A. and Ansari, M.J. 2012. Antibiotic, pesticide, and microbial contaminants of honey: human health hazards. *The scientific world Journal*, 2012.
- Ali, M. 2004. Hydrogen peroxide therapies: recent insights into oxystatic and antimicrobial actions. *Townsend Letter for Doctors and Patients* 255, 140–144
- Ananias, K.R., Melo, A.A.M.D. and Moura, C.J.D. 2013. Analysis of moisture content, acidity and contamination by yeast and molds in *Apis mellifera* L. honey from central Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 679-683.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2004. *Keputusan kepala badan pengawas obat dan makanan republik Indonesia Nomor: Hk. 00.05.4.2411*, Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta, pasal (1) dan (2).
- Badan Standardisasi Nasional. 2013. Madu. SNI 3545-2013.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan. SNI 7388:2009
- Badan Standardisasi Nasional. 2018. Madu. SNI 8664: 2018
- Bogdanov, S. 2009. Physical properties of honey. Dalam: *Book of Honey*, Chapter 4. Bee Product Science. www.bee-hexagon.net.
- Baroni, M.V., Arrua, C., Nores, M.L., Fayé, P., Díaz, M.D.P., Chiabrando, G.A. and Wunderlin, D.A. 2009. Composition of honey from Córdoba (Argentina): Assessment of North/South Provenance by chemometrics. *Food Chemistry* 114(1): 727–733.

- Carvalho, C. M., Meirinho, S., Estevinho, M.L.F. and Choupina, A.J.A.D.Z. 2010. Yeast species associated with honey: different identification methods. *Archivos de zootecnia*, 59(225), 103-113.
- Eleazu, C.O., Iroaganachi, M.A., Eleazu, K.C. and Okoronkwo, J.O. 2013. Determination of the physicochemical composition microbial quality and free radical scavenging activities of some commercially sold honey samples in Aba Nigeria. The effect of varying colors. *International Journal of Biomedical Research* 4(1): 32–41.
- Gulfraz, M., Ifftikhar, F., Asif, S., Raja, G.K., Asad, M.J., Abbasi, K. and Zeenat, A. 2010. *Quality assessment and antimicrobial activity of various honey types of Pakistan*. *African Journal of Biotechnology* 9(41): 6902–6906.
- Pereira, A.P., Dias, T., Andrade, J., Ramalhosa, E. and Estevinho, L.M. 2009. Mead production: *Selection and characterization assays of Saccharomyces cerevisiae strains*. *Food and chemical toxicology*, 47(8), 2057-2063
- Prabowo, S., Yuliani, Y., Prayitno, Y.A., Lestari, K. dan Kusesvara, A. 2019. Penentuan karakteristik fisiko-kimia beberapa jenis madu menggunakan metode konvensional dan metode kimia. *Journal of Tropical AgriFood*, 1(2), 66-73.
- Pucciarelli, A.B., Schapovaloff, M.E., Kummritz, S., Señuk, I.A., Brumovsky, L.A. and Dallagnol, A.M. 2014. Microbiological and physicochemical.
- Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional. 2006. *uji kapang/khamir dalam obat tradisional 96/mik/00*, Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM, pp.128.
- Silva, M.S., Rabadzhiev, Y., Eller, M.R., Iliev, I., Ivanova, I. and Santana, W.C. 2017. Microorganisms in honey. *Honey analysis*, 500.
- Snowdon, J.A. and Cliver, D.O. 1996. Microorganisms in honey. *International journal of food microbiology*, 31(1-3), 1-26.
- Stefanini, I. 2018. Yeast-insect associations: It takes guts. *Yeast*, 35(4),315
- Sudarmadji, S., Bambang, H. dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty.
- Sudaryanto, H. 2010. Analisis Kualitas Fisik dan Kimia Madu Lebah (*Apis cerana*) di Desa Kuapan Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. Skripsi. Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim, Riau pekan baru.
- Tewari. Jagdish. Irudayaraj. and Joseph. 2004. Quantification of Saccharides in Multiple Floral Honeys Using Fourier Transform Infrared Micro attenuated Total Reflectance Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 52 (11), 3237–3243.
- Veeraputhiran, V., Maribah, T.P.E. and Alfred, A. 2013. Physicochemical comparison and preservative of floral and nonfloral (rubber) honeys. *Agricultural and food Science* 3(3): 128-130.