

REVIEW SINGKAT: POTENSI ANTIOKSIDAN DARI SERBUK SARI LEBAH

Short Review: Potency of Antioxidant from Bee Pollen

Netty Maria Naibaho

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Politeknik Pertanian Negeri Samarinda

**) Penulis korespondensi: maria_nethy@yahoo.com*

Submisi: 14.1.2023; Diterima: 6.5.2023; Dipublikasikan: 1.6.2023

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang berfungsi untuk memperpanjang suatu produk dengan memperlambat proses peroksidasi lipid yang merupakan salah satu penyebab kerusakan makanan paling umum selama pengolahan dan penyimpanan. Review singkat ini mendiskusikan asal botani serbuk sari lebah (*bee pollen*), metode ekstraksi, penggunaan pelarut dan pengujian aktivitas antioksidannya. *Bee pollen* mengandung nutrisi dan senyawa golongan fenolat, flavonoid, serta terpenoid yang memiliki peran sebagai antioksidan yang dapat mengurangi stress oksidatif, dan oksidasi makromolekul yang dapat menekan munculnya penyakit regeneratif. Namun, aktivitas antioksidan senyawa kimia dari *bee pollen* ini dipengaruhi oleh musim, iklim, variasi lebah, dan proses pengolahan. Review singkat ini memberikan pengetahuan dasar tentang aktivitas antioksidan senyawa kimia dari *bee pollen* dan potensinya untuk diaplikasikan sebagai bahan tambahan pangan atau suplemen makanan.

Kata Kunci: *bee pollen*, bahan tambahan pangan, suplemen makanan, antioksidan

ABSTRACT

Antioxidants are chemical substances that help a product last longer by reducing the rate of lipid peroxidation, which is one of the major factors in food degradation during processing and storage. The objectives of this short review are to discuss the botanical source of bee pollen, the solvent extraction method, and its antioxidant activity. Bee pollen has a very appealing nutritional profile, and the phenolics, flavonoids, and terpenoids compounds, which are present antioxidant activity. This antioxidant activity is thought to lowering the oxidative stress and restrict the oxidation of macromolecules, which then lowering the prevalence of regenerative diseases. However, the antioxidant activity of these chemical compounds from bee pollen is influenced by season, climate, bee variations, and processing method. This review provides basic knowledge about the antioxidant activity of chemical compounds of bee pollen and its potential for application as a food additive or food supplement.

Key words: bee pollen, food additives, food supplement, antioxidant

PENDAHULUAN

Makanan olahan memiliki rasa yang unik dan seringkali ditambahkan dengan zat pewarna, pengemulsi, penstabil dan antioksidan sintetis seperti: tokoferol, butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluene (BHT). Namun, beberapa zat ini dianggap berbahaya atau karsinogenik jika dikonsumsi secara terus menerus. Para ahli peneliti pangan mencoba mencari pengganti bahan sintesis tersebut dengan bahan alami yang dianggap lebih sehat, aman dan tidak mencemari lingkungan (Mohdaly et al., 2013; Ramadan,

2013). Pangan dengan kandungan zat alami memiliki aktivitas biologis yang berkontribusi untuk meningkatkan kesehatan manusia. Selain itu, dengan bahan alami industri makanan, farmasi, dan kosmetik telah mengalami peningkatan tajam dalam pencarian senyawa alami yang mengandung komponen bioaktif yang berfungsi sebagai aditif alami dengan khasiat obat.

Senyawa fenolik merupakan salah satu sumber antioksidan alami yang dapat ditemukan diberbagai jenis sayuran, buah-buahan, teh, kopi, minyak essential dan produk-

produk tanaman herbal. Antioksidan mengacu pada zat yang memberikan radikal bebas dengan elektron untuk menstabilkan dan menghentikan kerusakan molekuler DNA, lipid dan protein (Mohammad et al., 2021). Antioksidan melawan radikal bebas dengan berbagai cara, seperti menstabilkan ion logam, mengurangi produksi spesies aktif, menghambat ROS, menghentikan reaksi berantai, dan memperbaiki kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Tutun et al., 2021).

Mekanisme pertahanan antioksidan diklasifikasikan menjadi dua jenis, enzimatis dan non enzimatis. Superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroksidase (GTPx), thioredoxin reductase, peroxy-redoxin, glutathione-S-transferase (GST), dan glutathione reduktase (GTRx) adalah beberapa contoh proses antioksidan enzimatis. Sedangkan antioksidan non-enzimatis seperti protein pengikat logam (ceruloplasmin, transferrin), albumin, bilirubin, glutathione, melatonin, dan asam urat (Tutun et al., 2021).

Penambahan ekstrak biji leci dapat menghambat adipogenesis dan peroksidasi lipid dalam pasta daging selama penyimpanan (Zhang et al., 2016). Selain itu, penambahan ekstrak *Achyrocline satureioides* 0,05% menyebabkan penurunan yang signifikan sebesar 35,7% pada nilai TBARS dibandingkan dengan kontrol setelah 75 hari penyimpanan dan menghambat oksidasi lipid selama periode penyimpanan.

Peroksidasi lipid merupakan salah satu penyebab kerusakan makanan paling umum selama pemrosesan dan penyimpanan, sehingga sumber antioksidan diperlukan dalam memperpanjang umur simpan produk. Sementara fitokimia senyawa fenolik, sangat membantu dalam metabolisme tubuh dan menjaga kesehatan manusia karena mengurangi stres oksidatif dan membatasi oksidasi makromolekul, yang mengurangi timbulnya penyakit degeneratif (Silva et al., 2009). Stres oksidatif dihasilkan dari peningkatan konsentrasi spesies oksigen reaktif (ROS) dalam sel. ROS dihasilkan oleh kedua faktor eksogen (lingkungan) dan endogen (yaitu O_2^- anion superoksida, produk sampingan alami dari metabolisme) (Denisow & Denisow-Pietrzyk, 2016). Senyawa fitokimia berupa flavonoid yang lagi tren dilaporkan memiliki

sifat biologis berdasarkan studi *in vitro* dan *in vivo* (Kac̆ániová et al., 2013).

Bee pollen merupakan salah satu produk yang dihasilkan oleh lebah selain dari madu, *royal jelly* dan propolis yang sudah dikenal dari zaman dahulu kala. *Pollen* yang dikumpulkan di dalam pot berbentuk bola yang dikemas oleh lebah madu pekerja, dan digunakan sebagai sumber makanan utama untuk sarangnya.

Jumlah *pollen* yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh jenis sumber daya, misalnya, nektar, serbuk sari, minyak tumbuhan, atau resin (Roubik & Patiño, 2018). Lebah menggunakan *pollen* sebagai sumber nutrisi protein (25-30%), karbohidrat (30-55%), lipid termasuk asam lemak dan sterol (1-20%), vitamin dan mineral (Kac̆ániová et al., 2013). Senyawa bioaktif dari *bee pollen* seperti karatenoid, flavonoid, phytosterols, polyphenol dan beberapa komponen propertis yang lainnya menjadikan *bee pollen* sebagai suplemen makanan yang memberikan nutrisi dan anti-inflamasi, anti-alergi, antiulcer, antimikroba, antimutagenik, anti-estrogenik, sifat kemoprotektif, dan anti-kanker (Wu et al., 2018; Rodríguez-González et al., 2018; Anjos et al., 2019).

Bee pollen telah terbukti dalam penelitian terbaru untuk melindungi DNA dan lipid dari kerusakan terkait stres oksidatif, seperti menunda oksidasi low-density lipoprotein (LDL). *Bee pollen* juga telah ditemukan untuk mengurangi penyakit kronis yang disebabkan oleh stres oksidatif, namun manfaat ini bergantung pada asal botani *pollen* (Rodríguez-González et al., 2018). Potensi farmakologis ini kemungkinan karena kemampuan antioksidan polifenol dan asam fenolik untuk berinteraksi dengan enzim penting seperti siklooksigenase, lipooksigenase, fosfolipase A2, NADH oksidase, atau glutathione reduktase dalam proses fisiologis penting (Sindhi et al., 2013).

Bee pollen dianggap sebagai "satunya makanan yang lengkap" untuk memenuhi kebutuhan metabolisme tubuh manusia dengan sifat terapeutiknya. Beberapa penelitian juga telah melaporkan tentang komposisi kimia dan aspek biologis dari *bee pollen* (Morais et al., 2011). Review singkat ini membahas asal botani *bee pollen*, proses

ekstraksi senyawa kimia sebagai sumber antioksidan.

METODE

Review singkat ini ditulis berdasarkan artikel-artikel yang dipublikasikan pada berbagai jurnal yang ditemui dari berbagai website pengindeks jurnal atau publisher seperti pubmed, google scholar, sciencedirect, springer, scopus, researchgate, publon, mdpi, scielo, web of science, clinicalTrial, medscape, dan semantic scholar. Semua artikel yang dipilih terkait dengan aktivitas antioksidan *bee pollen* berdasarkan metode ekstraksi dan metode analisa aktivitas antioksidan dengan kata kunci *bee pollen*, *bee-collected pollen*, komposisi kimia *bee pollen*, efek terapi *bee pollen*, efek fungsional *bee pollen*, efek perlindungan *bee pollen*. Semua artikel yang dikumpulkan kemudian dipilih, diperiksa, dan disaring kualitasnya untuk digunakan dalam penulisan review singkat ini.

IDENTIFIKASI ASAL BOTANI POLLEN

Identifikasi asal botani *pollen* (melissopalynology) diawali dengan tindakan pemisahan *pollen* berdasarkan warna, bentuk, dan konsistensinya. Semua sampel yang sudah diidentifikasi, dipilih dua pelet *pollen* yang tidak mengalami proses asetolisis (hilangnya sel *pollen*) untuk mewakili proses pengujian. *Pollen* terpilih tersebut ditempatkan dipreparat, dan ditetesi aquadest. Preparat dikeringkan pada suhu maks 40°C dan dipasang dengan media pemasangan entellan (Mikroskop Entellan, Jerman) (Friedle et al., 2021). Entellan merupakan media pemasangan anhidrat (berupa polimer terbuat dari campuran akrilat yang dilarutkan dalam toluene) untuk mikroskop yang digunakan untuk pemasangan permanen dan penyimpanan spesimen *pollen*. Morfologi *pollen* diidentifikasi menggunakan mikroskop cahaya (10 × 40) (Friedle et al., 2021). Butiran *pollen* mempunyai ukuran diameter sekitar 2.5 sampai 250 µm (Denisow & Denisow-Pietrzyk, 2016).

Diperlukan setidaknya 300 butir *pollen* pada setiap preparat untuk memastikan warna dan morfologi yang homogen untuk setiap *pollen* untuk menentukan asal botaninya.

Pollen dianggap berasal dari satu sumber floral yang sama jika setidaknya 95% dari butiran *pollen* tersebut mempunyai warna dan morfologi yang hampir sama (Karabagias et al., 2021).

Pollen dari sumber floral yang sama kemudian ditimbang bersama untuk menentukan kontribusi masing-masing jenis. Dapat ditentukannya asal botani *bee pollen* berdasarkan warna, bentuk dan berat butir *pollen* menjadikan deteksi komponen bioaktif *bee pollen* lebih mudah. Selain itu, asal botani *bee pollen* dapat ditentukan berdasarkan metode pengamatan spektrum *pollen* dengan mempertimbangkan warna dan berat *pollen* yang dinyatakan dalam persen.

EKSTRAKSI BEE POLLEN

Jenis *pollen* biasanya bersumber dari monofloral, yaitu berbagai sumber nektar atau serbuk sari tanaman yang dikumpulkan oleh lebah pekerja. Perlakuan pendahuluan dilakukan terhadap *bee pollen* dengan cara dibersihkan dan disimpan dalam kantong polietilen pada suhu 4°C sampai dilakukan pengujian lebih lanjut. Pada proses ekstraksi biasanya *pollen* dipisahkan secara manual berdasarkan warnanya yaitu kuning dan cokelat. Hal ini dilakukan agar hasil pengujian ekstrak dari *bee pollen* menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda.

Ekstraksi bahan alam dapat dilakukan dengan metode maserasi, perkolasi, rebusan, ultrasonik, refluks, Soxhlet, cairan bertekanan, fluida superkritis, gelombang mikro, enzimatis, dan distilasi (Zhang et al., 2018). Selektivitas, kelarutan, biaya, dan keamanan merupakan faktor sangat penting yang patut diperhitungkan dalam menentukan metode ekstraksi. Pelarut yang memiliki nilai polaritas yang mendekati polaritas zat terlarut akan bekerja lebih baik, demikian juga sebaliknya. Li et al. (2014) melaporkan bahwa efisiensi ekstraksi dipengaruhi oleh kualitas pelarut, ukuran partikel bahan baku, rasio pelarut terhadap bahan baku, serta suhu dan durasi ekstraksi.

Proses ekstraksi konvensional, seperti maserasi sering menggunakan pelarut organik dengan jumlah besar dan periode ekstraksi yang lama. Namun metode tersebut paling sering digunakan karena mudah, murah dan

cepat. Carneiro et al. (2019) melaporkan bahwa dengan menggunakan pelarut organik seperti, pelarut polar, semi polar dan non polar. *Bee pollen* yang mengandung lipid, gula dan asam-asam amino yang tinggi lebih cocok diekstrak dengan pelarut polar seperti etanol, karena lebih efektif dalam mengekstraksi komponen bioaktifnya. Bayram (2021) melaporkan bahwa ekstrak etanol disiapkan menggunakan ekstraksi menggunakan metode ultrasound yang ditemukan mengandung persentase flavonoid yang tinggi dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut air walaupun menggunakan ultrasonik menghasilkan ekstrak dengan kandungan flavonoid yang jauh lebih rendah.

Selain metode ekstraksi, jenis pelarut juga memainkan peranan penting dalam proses ekstraksi bee pollen yang mempengaruhi sifat kompleks dari produk alami seperti *bee pollen*. Sebelum dikonsumsi oleh manusia, metode ekstraksi dan pelarut ekstraksi yang tepat harus digunakan untuk menjelaskan komponen bioaktifnya dengan baik. Salah satu metode ekstraksi *bee pollen* yang tepat dengan cara memisahkan komponen lipid dan senyawa lainnya dengan cara sampel bee pollen dihilangkan lemaknya dengan heksana sebanyak tiga kali, divorteks, kemudian disentrifugasi. Sampel *bee pollen* kering yang dihilangkan lemaknya dicampur dengan metanol dan dimaerasi (metode ekstraksi pertama) atau *sonicated* (metode ekstraksi kedua) pada suhu kamar, divorteks setiap 20 menit. Campurannya disentrifugasi dan supernatan yang diperoleh dikumpulkan dan disimpan pada suhu 24°C sampai analisis selanjutnya. Ekstraksi ketiga dilakukan dengan menghilangkan lemak pollen dengan larutan metanol yang telah diasamkan. Campuran diinkubasi pada penangas air suhu 50°C selama 30 menit dan selanjutnya disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh dikumpulkan dan disimpan pada suhu 24°C sampai analisis lebih lanjut (Belina-Aldemita et al., 2019).

Pengujian ekstrak etanol *bee pollen* menggunakan metode spektrofotometri dan irradiasi sinar-gamma menghasilkan total senyawa fenolik dan flavonoid. Metode irradiasi sinar gamma ini dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dari ekstrak *bee pollen*.

Aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari dua metode tersebut berbeda, baik sebelum dan sesudah iradiasi. Namun hasil resonansi paramagnetik elektron (EPR) menunjukkan kandungan senyawa polifenol yang bagus (Aleksieva et al., 2021). Disamping itu, ekstraksi *bee pollen* menggunakan etanol 96% dan heksana, menunjukkan bahwa analisis kromatogram dan spektrofotometri mengidentifikasi lima puluh senyawa, termasuk satu gula, sepuluh flavonoid, dua turunan putresin, enam belas turunan amida asam hidroksisinamat, dua turunan coumarate, dan dua puluh tujuh jenis lipid. Senyawa yang diisolasi adalah *rhusflavon biflavonoid* yang merupakan salah satu golongan antioksidan. *Rhusflavon biflavonoid* ini menunjukkan aktivitas *leishmanicidal* yang tinggi terhadap promastigote dan amastigote pada *L. amazonensis*, mekanisme yang terjadi karena spesies oksigen reaktif, disfungsi mitokondria, dan gangguan membran pada parasit. Senyawa tersebut menunjukkan toksisitas rendah terhadap sel mamalia dan eritrosit manusia, dengan indeks selektivitas untuk eritrosit >100 dan untuk makrofag > 10. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa *rhusflavon* adalah kandidat yang menjanjikan untuk pengembangan obat melawan *L. amazonensis* (Gomes et al., 2021). Ekstraksi *bee pollen terliofilisasi* (BPT) menggunakan etanol menegaskan bahwa penggunaan *bee pollen* sebagai bahan alami antioksidan, dikombinasikan dengan penyimpanan dalam suhu dingin, dapat dianggap sebagai metode yang efektif untuk menghambat oksidasi lipid dalam sosis. Penghambatan ini karena adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dan adanya senyawa fenolik seperti kaempferol, quercetin, rutin dan asam trans-cinnamic dalam BPT (Almeida et al., 2017). Tabel 1 menunjukkan bahwa perbedaan pelarut, metode, sumber dan sifat-sifat ekstrak yang dihasilkan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

Meningkatnya perkembangan jumlah metode ekstraksi dan isolasi baru yang otomatis dan cepat untuk mengisolasi senyawa dari bahan alam memungkinkan terpenuhinya persyaratan skrining senyawa fitokimia yang tinggi, namun penentuan metode ekstraksi biasanya dilakukan dengan mempertimbangkan biaya, alat, dan jenis

bahan baku. Diantara metode ekstraksi yang ada, maserasi masih merupakan metode ekstraksi yang sangat sederhana tetapi efektif, serta mempunyai keunggulan dalam ekstraksi komponen termolabil. Selanjutnya, maserasi

dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut organik yang tidak membahayakan konsumen dan lingkungan sekitar, sehingga metode ini mempunyai banyak keunggulan untuk tetap dipertahankan.

Tabel 1. Sifat antioksidan yang diperoleh dari ekstrak bee pollen menggunakan beberapa jenis pelarut

No	Asal <i>bee pollen</i>	Jenis pelarut	Aktivitas dan karakteristik antioksidan
1	Enam jenis serbuk sari (mesquite, yucca, palem, semak terpentin, mimosa, dan chenopod) dikumpulkan dari Arizona	Maserasi menggunakan air, metanol, etanol, propanol, 2-propanol, aseton, dimethylformamid, and asetonitril.	Aktivitas antioksidan menunjukkan perbedaan yang cukup besar tergantung pada pelarut yang digunakan. Dalam uji FRAP, metanol dan ekstrak dimetilformamida ditampilkan nilai aktivitas terbesar, sedangkan yang diperoleh dengan penerapan asetonitril ditampilkan yang terendah. Ekstrak aseton juga ditemukan memiliki aktivitas rendah dalam kasus kebanyakan jenis <i>bee pollen</i> . Hasil serupa diperoleh dengan menggunakan uji DPPH
2	Pollen dikumpulkan dari <i>Melipona koloni rufiventris</i> (lebah tak bersengat) di Brazil	Ekstraksi fraksional dengan selanjutnya penggunaan etanol, n-heksana, dan etil asetat	Metode DPPH diterapkan untuk menentukan aktivitas antioksidan. Ekstrak etil asetat terbukti sebagai yang paling efektif. Ekstrak etanol lebih efisiensi lebih sedikit (lebih dari enam kali), sedangkan kapasitas ekstrak heksana adalah sedikit (hampir tidak aktif).
3	Serbuk sari lebah dikumpulkan di Thailand di musim panas (Juni), komponen utamanya diidentifikasi sebagai serbuk sari jagung (<i>Z. mays L.</i>)	Maserasi menggunakan metanol, diklorometana, dan heksana 80%	Aktivitas antioksidan dengan uji DPPH. Ekstrak heksana terbukti sama sekali tidak aktif, sedangkan dengan menggunakan diklorometana menunjukkan sifat antioksidan terbaik, sebanding dengan referensi antioksidan asam askorbat
4	Tiga belas sampel bee polen yang dikumpulkan dari peternak lebah dari wilayah Aljazair Selatan	Maserasi menggunakan metanol 80%	Uji total Phenol dengan reagen folin-ciocalteu. Hasil menunjukkan bahwa serbuk sari lebah Aljazair sampel memiliki potensi antioksidan yang tinggi, karena kandungan flavonoid dan fenoliknya yang tinggi "bioaktif agen" terutama quercetin, dan yang paling umum senyawa dalam produk adalah asam galat, p-coumaric asam, dan kuersetin.
5	Dua puluh delapan ekstrak bee pollen dari zona tengah Chili	Ekstraksi ultrasonik menggunakan etanol.	Hasil menunjukkan korelasi positif yang signifikan secara statistik antara kandungan total fenolik dan kapasitas antioksidan. Hasil juga mendukung efek antioksidan, hepatoprotektif, dan anti-steatosis dari serbuk sari lebah dalam model <i>in vitro</i> .
6	Lima sampel bee pollen (<i>Apis mellifera</i>) diperoleh dari wilayah Tuscany (Italia)	Maserasi menggunakan etanol 95%	Aktivitas antioksidan ditentukan dengan total fenol, dan uji FRAP. Hasil menunjukkan bahwa pollen dari Tuscan kaya akan senyawa fitokimia dan memiliki aktivitas antioksidan yang menunjukkan emisi fluoresensi intens dan kandungan yang lebih tinggi dalam komponen senyawa bioaktif
7	Sampel serbuk sari dikumpulkan selama periode mekar bunga artichoke di kebun pertanian	Ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut heksana/isopropanol (60:40) dan metanol 80 %	Serbuk sari artichoke yang dikumpulkan lebah menunjukkan sifat antioksidan yang baik dengan mempelajari tiga fraksi yang diperoleh (lipid, fenolik yang dapat diekstraksi dan alkaline hydrolysable phenolic) menggunakan lima uji antioksidan secara <i>in vitro</i> (DPPH, ABTS, FRAP, TAC, FCC) yang berbeda.

No	Asal <i>bee pollen</i>	Jenis pelarut	Aktivitas dan karakteristik antioksidan
	Eksperimental Radmilovac dari Fakultas Pertanian, Universitas Beograd		Fraksi fenolik adalah metode ekstraksi yang terbaik dalam menghasilkan sumber antioksidan menggunakan metode DPPH dan ABTS.
8	Serbuk sari bunga mimosa (<i>Mimosa pigra</i> L.) yang dikumpulkan oleh lebah <i>Ais mellifera</i> berasal dari Chiangmai provinsi, Thailand pada tahun 2017	Maserasi menggunakan metanol 80°C, dipartisi secara berurutan dengan heksana, diklorometana (DCM) dan MeOH untuk mengisolasi senyawa tergantung pada polaritas mereka.	Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antioksidan dan antitirosinasenyanya melalui uji DPPH dan penghambatan ekstrak jamur tirosinase. Ekstrak yang dipartisi DCM dari mimosa flower bee polen memberikan aktivitas antioksidan tertinggi, dengan konsentrasi efektif pada 50% sebesar 192,1 g/Mo. Semua fraksi diuji aktivitas antioksidannya dan dianalisis kandungan struktur kimianya melalui resonansi magnetik nuklir. Mimosa pigra L. flower bee pollen yang dipanen di Thailand dapat mengurangi tingkat radikal bebas tetapi bukan aktivitas anti-tirosinase

Pustaka: ¹LeBlanc et al. (2009); ²Silva et al. (2009); ³Chantarudee et al. (2012); ⁴Hemmami et al. (2020); ⁵Oyarzún et al. (2021); ⁶Barbieri et al. (2020), ⁷Kostić et al. (2021); ⁸Khongkarat et al. (2021)

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Senyawa kimia fenolik dapat ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, teh, rempah-rempah, dan minyak esensial, yang merupakan salah satu antioksidan alami yang paling penting. Radikal bebas, atau spesies oksigen reaktif (ROS) yang berlebihan, menyebabkan kerusakan molekul DNA, protein, dan lipid mengakibatkan gangguan seperti penyakit kanker dan peradangan. Produk lebah dianggap sebagai sumber potensial antioksidan alami yang mampu menangkalkan efek stres oksidatif yang menyebabkan penyakit. Salah satunya adalah *bee pollen* yang mempunyai senyawa fenolik dan flavonoid. Kedua jenis senyawa kimia ini mampu menangkalkan radikal bebas dari luar, sehingga *bee pollen* memiliki sifat antioksidan (Almeida et al., 2017).

Flavonoid adalah turunan tanaman dari struktur polifenol terdiri dari beberapa sub-kelompok seperti flavon, flavanol (katekin), antosianin, dan chalcones, serta isoflavon dan neoflavonoid. Flavonoid sering terdapat dalam bentuk glikosida, yang berperan sebagai aglikon yang dihubungkan oleh satu ikatan glikosidik dengan gugus karbohidrat. Menurut LeBlanc et al. (2009) ekstrak *bee pollen* mengandung kadar polifenol yang tinggi yang dinyatakan sebagai asam galat.

Kandungan total polifenol *bee pollen* dari Italia dan Portugal berturut-turut berkisar

5,78-20,15 dan 12,9 hingga 19,8 mg GAE/g (Mazurek et al., 2021). Jumlah total polifenol dalam *bee pollen* tergantung pada jenis tanaman asal *pollen*, tetapi cara pembuatan ekstrak juga dapat mempengaruhi hasil pengukuran kandungan polifenol (Martinello & Mutinelli, 2021). Metanol ekstrak dari *bee pollen* menghasilkan total polifenol yang tinggi yang dapat menyerap ultraviolet B (UVB, panjang gelombang sedang sekitar 280-325 nm) dengan tingkat tertinggi. Hal ini dikarenakan metanol dapat menurunkan pembentukan pemutusan untai asam nukleotida (DNA) setelah terpapar oleh UVB (Karapetsas et al., 2019). Penghambat radikal yang sangat baik dari polifenol yang memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi dengan jumlah gugus hidroksil pada cincin fenil (LeBlanc et al., 2009). Jumlah senyawa polifenol *bee pollen* yang relatif tinggi, bertanggung jawab atas sifat antioksidan yang kuat dan berkorelasi erat dengan aktivitas biologisnya (Mazurek et al., 2021). Molekul dengan berat molekul rendah merupakan antioksidan paling signifikan dalam *bee pollen*. Tokoferol dan karotenoid adalah antioksidan hidrofobik, sedangkan asam askorbat dan bahan kimia polifenol adalah antioksidan hidrofilik. Radikal hidroksil dinetralkan oleh antioksidan yang larut dalam air, seperti vitamin C (Mazurek et al., 2021).

Bee pollen juga mengandung vitamin C (asam askorbat), vitamin B dan β -karoten sebagai sumber antioksidan. Asam askorbat sekitar 7-56 mg/100 g, merupakan vitamin antioksidan paling tinggi dalam *bee pollen*. Komisi Madu Internasional merekomendasikan kisaran vitamin kelompok B yaitu: vitamin B1 (tiamin) sebesar 0,6 -1,3 mg/100 g; vitamin B2 (riboflavin) sebesar 0,6-2 mg/100 g; vitamin B3 (niacin) sebesar 4-11 mg/100 g; dan vitamin B6 (piridoksin) sebesar

0,2-0,7 mg/100 g. Analisis literatur terbaru memberikan nilai rata-rata untuk β -karoten (provitamin A) sebesar 1-20 mg/100 g, dan tokoferol (vitamin E) sebesar 4-32mg/100 g (Kostić et al., 2022).

Bee pollen telah dieksplorasi kemampuannya untuk menghilangkan radikal bebas. Beberapa pengujian aktivitas antioksidan sudah dilakukan secara in vitro dengan menggunakan berbagai metode analisis untuk melihat efek antioksidan *bee pollen* (Tabel 2).

Tabel 2. Metode pengujian aktivitas antioksidan pada *bee pollen* dari berbagai negara (2018-2023)

No.	Nama <i>bee pollen</i>	Asal Negara (Kabupaten/Kota, Kecamatan)	Metode pengujian antioksidan	Hasil pengujian aktivitas antioksidan
1	<i>Bee pollen</i> segar <i>Tetragonula biroi</i>	Indonesia	DPPH	IC ₅₀ 6,33-17,32 μ M (82,31% dalam 6,25 μ g/mL)
2	<i>Bee pollen</i> segar <i>Hiterotrogona itama</i>	Indonesia (Samarinda, Tanah Merah)	DPPH	IC ₅₀ 59,91%
		Indonesia (Kutai Kartanegara, Buana Jaya)	DPPH	IC ₅₀ 61,87%
		Indonesia (Penajam Paser Utara)	DPPH	IC ₅₀ <25%
		Indonesia (Paser)	DPPH	IC ₅₀ 71,27 %
		Indonesia	DPPH	Vitamin C 32,93 (μ g/mL)
3	<i>Bee pollen</i> segar <i>Apis mellifera</i>	Thailand	DPPH	121,3 – 192,1 μ g/mL
4	<i>Bee pollen</i>	Turki	ABTS	6,20 - 111,40 μ mol TE/g
			CUPRAC	6,25 - 257,27 μ mol TE/g
			DPPH	0,44 - 83,84 μ mol TE/g
5	<i>Bee pollen</i> kering <i>Apis mellifera</i>	Brazil	BCB	72,38 - 90,27%
			DPPH	0,44 - 83,84 μ mol TE/g
			ABTS	6,20 - 111,40 μ mol TE/g
			CUPRAC	6,25 - 257,27 μ mol TE/g
6	<i>Bee pollen</i> segar dari <i>Apis mellifera</i>	Italia	FRAP	190,27 \pm 8,30 μ mol Fe 2+ /g)
			Red Blood Cells (CAA-RBC)	54,61 \pm 8,51 CAA unit
7	<i>Bee pollen</i>	China	ABTS	0,551 - 0,671 μ mol TE/g
			DPPH	0,417 - 0,451 μ mol TE/g
8	<i>Bee pollen</i> segar multifloral	Turki	DPPH	0,29 \pm 0,01 IC ₅₀ (mg pollen kering/mL)
9	<i>Bee pollen</i> segar	Turki dan Rusia	DPPH	60,35 – 81.41%
10	<i>Bee pollen</i> kering	Eropa	ORP	16,27 – 39,40 mg RUE/10 g
11	<i>Bee pollen</i>	Italia	ABTS	49,9 – 216,3 μ mol TE/g DW
			ORAC	105,0 – 916,1 μ mol TE/g DW
			DPPH	11,9 - 134,7 μ mol TE/g DW
12	<i>Bee pollen</i> kering dari <i>Apis mellifera</i>	Brazil	ORAC	133,7 - 542.0 μ mol TE/g
			DPPH	10,0 – 110,8 μ mol TE/g

¹Arung et al. (2023), ²Saputra et al. (2021), ³Khongkarat et al. (2021), ⁴Altiner et al. (2021), ⁵Soares de Arruda et al. (2020), ⁶Barbieri et al. (2020), ⁷Su et al. (2020), ⁸Kanar & Mazı (2019), ⁹Özcan et al. (2019), ¹⁰Adaškevičiūtė et al. (2019), ¹¹Rocchetti et al. 2018, ¹²De-Melo et al., 2018.

Aktivitas antioksidan *bee pollen* tergantung dari komposisi kimianya (Kalaycıoğlu et al., 2017; Freire et al., 2012) yang secara langsung ditentukan oleh keragaman botani asal *pollen* dikumpulkan (Nascimento & Luz Jr, 2018). Selain input botani, komposisi kimia *bee pollen* dipengaruhi oleh waktu penyimpanan, status nutrisi tanaman, dan variabel ambien selama fase pengumpulan *pollen* oleh lebah dan waktu panen (Mărgăoan et al., 2019; Kalaycıoğlu et al., 2017). Perlu dicatat bahwa efektivitas antioksidan alami dipengaruhi oleh berbagai parameter, termasuk mekanisme reaksi, keadaan eksperimental, dan heterogenitas matriks (Nascimento & Luz Jr, 2018).

Ekstraksi pelarut mempengaruhi aktivitas antioksidan pada *bee pollen* lebah kelulut (*Heterotrigona itama*). Ekstrak etanolik memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH dan FRAP yang lebih kuat sebesar 97,95 % dibandingkan dengan ekstrak heksanoat sebesar 93,60 % (Akhir et al., 2017). Pérez-Pérez et al. (2018) melaporkan bahwa ekstrak etanol dan metanol pada *bee pollen* lebah tanpa sengat (*stingless bee*) seperti *Austrolebeia australis*, *Tetragonula carbonaria*, dan *Tetragonula hockingsi* memiliki kapasitas antioksidan yang sama menggunakan metode ABTS terhadap reaksi fenton (Fe^{3+} -askorbat $\text{EDTA-H}_2\text{O}_2$) dan radikal hidroksil. *Bee pollen Trigona thoracica* ditemukan memiliki penghambatan DPPH tertinggi (IC_{50} 0,86 mg/mL), diikuti oleh *Trigona apicalis* (IC_{50} 1,05 mg/mL) dan *Trigona itama* (IC_{50} 3,24 mg/mL) (Fadzilah et al., 2017). Pengujian profil antioksidan juga dilakukan dengan pelarut etanol terhadap *bee pollen* monofloral poppy, canola dan bunga matahari. *Pollen* canola menunjukkan nilai aktivitas antioksidan yang terbaik terhadap parameter flavonoids, polyphenols, dan proteins (Fatrčová-Šramková et al., 2013). Metode pengujian dengan ABTS menghasilkan aktivitas radikal yang lebih baik daripada metode uji DPPH, seperti stereoselektivitas radikal dan kelarutan ekstrak dalam berbagai sistem pengujian sebagai pemberi pengaruh kemampuan ekstrak untuk bereaksi dan menghilangkan radikal yang berbeda (Mohdaly et al., 2013). Carpes et al. (2014) juga mengevaluasi aktivitas antioksidan setelah penggunaan Amberlite XAD2 resin

untuk pemurnian sampel ekstrak *bee pollen*, dan bahkan terjadi penurunan setengah dari senyawa-senyawa fenolik, efektifitas aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Penggunaan β -karoten tidak meningkatkan aktivitas antioksidan dimungkinkan karena dipengaruhi oleh hilangnya senyawa polar dalam ekstrak, membuat larutan menjadi encer dan efisiensi perlindungan lebih rendah terhadap oksidasi lipid (Carpes et al., 2014).

Konsentrasi fenilpropanoid berhubungan dengan aktivitas antioksidan secara keseluruhan sebagaimana ditentukan oleh peroksidasi asam linoleat dibanding senyawa kimia fenolik. Namun flavonol, di sisi lain, dapat bertindak sebagai antioksidan dan pro-oksidan dalam bentuk tereduksi dan teroksidasi sedangkan antosianin bertindak sebagai pro-oksidan (Sousa et al., 2015). Namun perlu diketahui bahwa sifat antioksidan *bee pollen* dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu waktu pengumpulan *pollen*, asal botani (geografis) *pollen*, periode penyimpanan *pollen*, dan metode eksperimental.

KESIMPULAN

Asal botani *bee pollen* ditentukan berdasarkan warna, bentuk dan ukuran butir *pollen* dengan pengamatan mikroskop. Ekstraksi senyawa bioaktif dari *bee pollen* dilakukan dengan metode maserasi (dingin) penggunaan pelarut polar, semi polar maupun non polar. Metode DPPH dan ABTS umumnya digunakan dalam mengukur aktivitas antioksidan ekstrak *bee pollen* karena dapat menguji aktivitas antioksidan secara efektif walaupun metodenya lebih sederhana dan murah. *Bee pollen* mengandung senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan yang tinggi berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pangan atau suplemen makanan, namun studi tentang ini masih terbatas dan perlu eksplorasi yang lebih dalam.

DAFTAR PUSTAKA

Adaškevičiūtė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., Barčauskaitė, K., Maruška, A., 2019. Comparison of physicochemical properties of bee pollen with other bee products. *Biomolecules*, 9(819): 1-22. doi:10.3390/biom9120819

- Akhir, R.A., Bakar, M.F., Sanusi, S.B., 2017. Antioxidant and antimicrobial activity of stingless bee bread and propolis extracts. The 2nd International Conference on Applied Science and Technology. 1891, pp. 020090-1–020090-7. Johor: AIP Publishing. doi:10.1063/1.5005423
- Aleksieva, K., Mladenova, R., Solakov, N., Loginovska, K., 2021. EPR analysis of free radical components and antioxidant activity of bee pollen before and after gamma-irradiation. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 327: 713–719.
- Almeida, J.D., dos Reis, A.S., Heldt, L.F., Pereira, D., Bianchin, M., de Moura, C., Carpes, S.T., 2017. Lyophilized bee pollen extract: A natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. LWT-Food Science and Technology, 76: 299-305. doi:10.1016/j.lwt.2016.06.017
- Altiner, D. D., Altunatmaz, S. S., Sabuncu, M., Aksu, F., Sahan, Y., 2021. In-vitro bioaccessibility of antioxidant properties of bee pollen in Turkey. Food Science and Technology, 41(1): 133-141. doi:10.1590/fst.10220
- Anjos, O., Paula, V., Delgado, T., & Estevinho, L., 2019. Influence of the storage conditions on the quality of bee pollen. Zemdirbyste-Agriculture, 106(1): 87-94. doi:10.13080/z-a.2019.106.012
- Arung, E.T., Syafrizal, Wijaya, I.K., Paramita, S., Amen, Y., Kim, Y.U., Shimizu, K., 2023. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acne activities of stingless bee (*Tetragonula biroi*) propolis. Fitoterapia, 164(105375), 1-5. doi:10.1016/j.fitote.2022.105375
- Barbieri, D., Gabriele, M., Summa, M., Colosimo, R., Leonardi, D., Domenici, V., Pucci, L., 2020. Antioxidant, nutraceutical properties, and fluorescence spectral profiles of bee pollen samples from different botanical origins. Antioxidants, 9(10): 1-15. doi:10.3390/antiox9101001
- Bayram, N.E., 2021. Vitamin, mineral, polyphenol, amino acid profile of bee pollen from *Rhododendron ponticum* (source of “mad honey”): nutritional and palynological approach. Journal of Food Measurement and Characterization, 15: 2659–2666. doi:10.1007/s11694-021-00854-5
- Belina-Aldemita, M., Opper, C., Schreiner, M., D'Amico, S., 2019. Nutritional composition of pot-pollen produced by stingless bees (*Tetragonula biroi* Friese) from the Philippines. Journal of Food Composition and Analysis, 82: 1-8. doi:10.1016/j.jfca.2019.04.003
- Carneiro, A.L., Pinto, A.C., Gomes, A.A., da Silva, L.A., Teixeira, M.F., Gomes, C.C., Naiff, M.D., 2019. Antimicrobial and Larvicidal activities of stingless bee pollen from Maues, Amazonas, Brazil. Bee World, 96(4): 98-103. doi:10.1080/0005772X.2019.1650564
- Carpes, S., de Alencar, S., Cabral, I., Oldoni, T., Mourao, G., Haminiuk, C., Masson, M., 2014. Polyphenols and palynological origin of bee pollen of *Apis mellifera* L. from Brazil. Journal of Food, 11(2): 150–161. doi:10.1080/19476337.2012.711776
- Chantarudee, A., Phuwapraisirisan, P., Kimura, K., Okuyama, M., Mor, H., Kimura, A., Chanchao, C., 2012. Chemical constituents and free radical scavenging activity of corn pollen collected from *Apis mellifera* hives compared to floral corn pollen at Nan, Thailand. BMC Complementary and Alternative Medicine, 12(45): 1-12.
- De-Melo, A., Estevinho, L., Moreira, M., Delerue-Matos, C., de Freitas, A.D., Barth, O.M., de Almeida-Muradian, L.B., 2018. Phenolic profile by HPLC-MS, biological potential, and nutritional value of a promising food: Monofloral bee pollen. Journal of Food Biochemistry, e12536: 1-21. doi:10.1111/jfbc.12536
- Denisow, B., Denisow-Pietrzyk, M. 2016. Biological and therapeutic properties of

- bee pollen: a review. *Journal Science Food Agric*, p.7. doi:10.1002/jsfa.7729
- Fadzilah, N.H., Jaapar, M.F., Jajuli, R., Omar, W., 2017. Total phenolic content, total flavonoid and antioxidant activity of ethanolic bee pollen extracts from three species of Malaysian stingless bee. *Journal of Apicultural Research*, 56(2): 130–135. doi:10.1080/00218839.2017.1287996
- Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Kačániová, M., Máriássyová, M., Rovná, K., Stričík, M., 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health. Journal of Environmental Science and Health*, 48: 133–138. doi:10.1080/03601234.2013.727664
- Freire, K.R., Lins, A.C., Dórea, M.C., Santos, F.A., Camara, C.A., Silva, T.M., 2012. Palynological origin, phenolic content, and antioxidant properties of honey bee collected pollen from Bahia, Brazil. *Molecules*, 17(2): 1652-1664. doi:10.3390/molecules17021652
- Friedle, C., D'Alvise, P., Schweikert, K., Wallner, K., Hasselmann, M., 2021. Changes of microorganism composition in fresh and stored bee pollen from Southern Germany. *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 47251–47261. doi:10.1007/s11356-021-13932-4
- Gomes, A.N., Camara, C.A., Sousa, A.D., dos Santos, F.d., Filho, P.D., Dorneles, G.P., Silva, T.S., 2021. Chemical composition of bee pollen and leishmanicidal activity of rhusflavone. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31: 176-183. doi: 10.1007/s43450-021-00130-z
- Hemmami, H., Seghir, B.B., Ali, M.B., Rebiai, A., Zeghoud, S., Brahmia, F., 2020. Phenolic profile and antioxidant activity of bee pollen extracts from different regions of Algeria. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 31(2): 93-98. doi:10.2478/auoc-2020-0017
- Kačániová, M., Rovná, K., Arpášová, H., Hleba, L., Petrová, J., Haščík, P., Stričík, M., 2013. The effects of bee pollen extracts on the broiler chicken's gastrointestinal microflora. *Research in Veterinary Science*, 95(1): 34-37. doi: /10.1016/j.rvsc.2013.02.022
- Kalaycıoğlu, Z., Kaygusuz, H., Döker, S., Kolaylı, S., Erim, F., 2017. Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities. *LWT*, 84: 402-408. doi:10.1016/j.lwt.2017.06.003
- Kanar, Y., Mazi, B.G., 2019. Effect of different drying methods on antioxidant characteristics of bee-pollen. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13: 3376-3386. doi:10.1007/s11694-019-00283-5
- Karabagias, I.K., Karabagias, V.K., Karabournioti, S., Badeka, A.V., 2021. Aroma identification of Greek bee pollen using HS SPME/GC-MS. *European Food Research and Technology*, 247: 1781–1789. doi:10.1007/s00217-021-03748-4
- Karapetsas, A., Voulgaridou, G.-P., Konialis, M., Tsochantaridis, I., Kynigopoulos, S., Lambropoulou, M., Pappa, A., 2019. Propolis extracts inhibit UV-induced photodamage in human experimental in vitro skin models. *Antioxidants*, 8(125): 1-20. doi:10.3390/antiox8050125
- Khongkarat, P., Ramadhan, R., Phuwapraisirisan, P., Chanchao, C., 2021. Screening and bioguided fractionation of *Mimosa pigra* L. bee pollen with antioxidant and anti-tyrosinase activities. *Journal of Apicultural Science*, 65(1): 71-83. doi:10.2478/jas-2021-0001
- Kostić, A.Ž., Milinčić, D.D., Nedić, N., Gašić, U.M., Trifunović, B.Š., Vojt, D., Pešić, M.B., 2021. Phytochemical profile and antioxidant properties of bee-collected artichoke (*Cynara*

- scolymus*) pollen. *Antioxidants*, 10(7): 1091. doi:10.3390/antiox10071091
- Kostić, A.Z., Milinčić, D.D., Tešić, Ž.L., Pešić, M.B. 2022. Bee pollen in cosmetics: The chemical point of view. *In* Boyacioglu, D. (Ed.), *Bee Products and Their Applications in the Food and Pharmaceutical Industries* (pp. 261-282). Belgrade, Serbia: Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-323-85400-9.00011-3
- Li, P., Yin, Z.-Q., Li, S.L., Huang, X.J., Ye, W.C., Zhang, Q.W., 2014. Simultaneous determination of eight flavonoids and pogostone in pogostemon cablin by high performance liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37: 1771–1784. doi:10.1080/10826076.2013.809545
- LeBlanc, B.W., Davis, O., Boue, S., DeLucca, A., Deeby, T., 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115: 1299–1305. doi:10.1016/j.foodchem.2009.01.055
- Mărgăoan, R., Stranț, M., Varadi, A., Topal, E., Yücel, B., Cornea-Cipcigan, M., Vodnar, D., 2019. Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. *Antioxidants*, 8(12): 568. doi:10.3390/antiox8120568
- Martinello, M., Mutinelli, F., 2021. Antioxidant activity in bee products: A review. *Antioxidants*, 10(1): 71. doi:10.3390/antiox10010071
- Mazurek, S., Szostak, R., Kondratowicz, M., Weglińska, M., Kita, A., Nems, A., 2021. Modeling of antioxidant activity, polyphenols and macronutrients content of bee pollen applying solid-state ¹³C NMR spectra. *Antioxidants*, 10(7): 1123. doi:10.3390/antiox10071123
- Mohammad, S.M., Mahmud-Ab-Rashid, N.K., Zawawi, N., 2021. stingless bee-collected pollen (bee bread): Chemical and microbiology properties and health benefits. *Molecules*, 26(4): 957. doi:10.3390/molecules26040957
- Mohdaly, A.A., Mahmoud, A.A., Roby, M.H., Smetanska, I., Ramadan, M.F., 2013. Phenolic extract from propolis and bee pollen composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Chemistry*, 39: 538–547. doi:10.1111/jfbc.12160
- Morais, M., Moreira, L., Feás, X., Estevinho, L.M., 2011. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food Chem Toxicol*, 49(5): 1096-1101. doi: 10.1016/j.fct.2011.01.020
- Nascimento, A., Luz Jr, G., 2018. Bee pollen properties: uses and potential pharmacological applications-a review. *Analytical & Pharmaceutical Research*, 7(4): 513-515. doi:10.15406/japlr.2018.07.00276
- Oyarzún, J.E., Andia, M.E., Uribe, S., Pizarro, P.N., Núñez, G., Montenegro, G., Bridi, R., 2021. Honeybee pollen extracts reduce oxidative stress and steatosis in hepatic cells. *Molecules*, 26(1): 6. doi:10.3390/molecules26010006
- Özcan, M.M., Aljuhaim, F., Babiker, E.E., Uslu, N., Ceylan, D.A., Ghafoor, K., Alsawmah, O.N., 2019. Determination of antioxidant activity, phenolic compound, mineral contents and fatty acid compositions of bee pollen grains collected from different locations. *J. Apic. Sci*, 63(1): 69-79. doi:10.2478/JAS-2019-0004
- Pérez-Pérez, E., Sulbarán-Mora, M., Barth, O. M., Massaro, C.F., Vit, P., 2018. Bioactivity and botanical origin of *Austroplebeia* and *Tetragonula* Australian pot-pollen. *In* Vit, P., Pedro, S., Roubik, D. *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (pp. 377-390). Venezuela: Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-319-61839-5_27
- Ramadan, M.F., 2013. Healthy blends of high linoleic sunflower oil with selected cold pressed oils: Functionality, stability and antioxidative characteristics. *Ind.*

- Crops Prod, 43: 65–72. doi:10.1016/j.indcrop.2012.07.013
- Rocchetti, G., Castiglioni, S., Maldarizzi, G., Carloni, P., Lucini, L., 2018. UHPLC-ESI-QTOF-MS phenolic profiling and antioxidant capacity of bee pollen from different botanical origin. *International Journal of Food Science and Technology*, 1-12. doi:10.1111/ijfs.13941
- Rodríguez-González, I., Ortega-Toro, R., Díaz, C., 2018. Influence of microwave- and ultrasound-assisted extraction on bioactive compounds from pollen. *Contemporary Engineering Sciences*, 11(34): 1669-1676. doi:10.12988/ces.2018.84165
- Roubik, D., Patiño, J.E., 2018. The stingless honey bees (Apidae, Apinae: Meliponini) in Panama and pollination ecology from. *In cham, In Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (pp. 47-66). Switzerland: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-61839-5_1
- Saputra, S.H., Saragih, B., Kusuma, I.W., Arung, E.T., 2021. Antioxidant and antibacterial screening of honey of *Hiterotrogona itama* collected from different meliponiculture areas in East Kalimantan, Indonesia. *Nusantara Bioscience*, 13(2): 232-237. doi:10.13057/nusbiosci/n130213
- Silva, T.M., Camara, C., Lins, A.C., Agra, M., Silva, E.M., Reis, I.T., Freitas, B.M., 2009. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 81(2): 173-178.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., Dhaka, N., 2013. Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9): 828-835. doi:10.1016/j.jopr.2013.10.001
- Soares de Arruda, V.A., Vieria dos Santos, A., Sampaio, D.F., Araújo, E.d., Peixoto, A.L., Estevinho, L.M., Bicudo de Almeida-Muradian, L., 2020. Brazilian bee pollen: phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Journal of Apicultural Research*, 1-9. doi:10.1080/00218839.2020.1840854
- Sousa, C., Moita, E., Valentao, P., Fernandes, F., Monteiro, P., Andrade, P., 2015. Effects of colored and noncolored phenolics of *Echium plantagineum* L. bee pollen in Caco-2 cells under oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide. *Agricultural and food Chemistry* 63(7): 2083-2091. doi:10.1021/jf505568h
- Su, J., Yang, X., Lu, Q., Liu, R., 2020. Antioxidant and anti-tyrosinase activities of bee pollen and identification of active components. *Journal of Apicultural Research*, 60(2): 297-307. doi:10.1080/00218839.2020.1722356
- Tutun, H., Kaya, M.M., Usluer, M.S., Kahraman, H.A., 2021. Bee pollen: Its antioxidant activity. *Uludag Bee Journal*, 21(1): 119-131. doi:10.31467/uluaricilik.896045
- Wu, W., Wang, K., Qiao, J., Dong, J., Li, Z., Zhang, H., 2018. Improving nutrient release of wall-disruption bee pollen with a combination of ultrasonication and high shear technique. *J Sci Food Agric*, 99: 564–575. doi:10.1002/jsfa.9216
- Zhang, Q.W., Lin, L.G., & Ye, W.C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(20): 2-26. doi:10.1186/s13020-018-0177-x
- Zhang, Y., Yang, F., Jamali, M. A., Peng, Z., 2016. Antioxidant enzyme activities and lipid oxidation in rape (*Brassica campestris* L.) bee pollen added to salami during processing. *Molecules*, 21(11): 1439. doi:10.3390/molecules21111439