

*Skripsi*

**SKRINING KANDUNGAN SENYAWA AKTIF MADU DAN UJI  
POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

**ENDAH HANDAYANI**

**H 311 14 515**



**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2018**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**SKRINING KANDUNGAN SENYAWA AKTIF MADU DAN UJI  
POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

**Oleh :**

**ENDAH HANDAYANI  
H 311 14 515**



**MAKASSAR  
2018**



**SKRIPSI**

**SKRINING KANDUNGAN SENYAWA AKTIF MADU DAN UJI  
POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

**Disusun dan diajukan oleh**

**ENDAH HANDAYANI  
H 311 14 515**

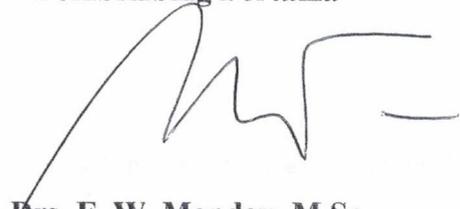
**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama**



**Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc  
NIP. 195105151 97412 1 001**

**Pembimbing Pertama**



**Drs. F. W. Mandey, M.Sc  
NIP. 19650118 199002 1 001**

*When I step into the unknown  
I know I'll never be alone  
You have won me the victory  
Before I even believed  
You've loved me through the years  
So whom shall I fear?  
You're all I need*

*My Lord*

*My Heavenly Father*

*My Redeemer, My Jesus*



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

*It is being sure of what we Hope for, being convinced of what we do not see”  
Hebrews 11:1*

## PRAKATA

Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan Yesus, oleh karena penyertaan dan kasih setia-Nya yang melimpah akhirnya penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan hasil penelitian dengan judul “SKRINING KANDUNGAN SENYAWA AKTIF MADU DAN UJI POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN”. Penyelesaian tugas ini sebagai syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa betapa banyaknya hambatan yang terjadi dalam menyelesaikan tugas ini. Tugas ini tidak akan selesai tanpa dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang setinggi kepada :

1. Kedua Orang Tua, **Yohanis Kendek** dan **Damaris Karisa** atas segala kasih sayang, pengertian, dukungan serta segala wejangan hikmat yang tidak henti disampaikan pada penulis. Juga buat dukungan dari kakak penulis, **Arie, Imanuel, Mesri, Nopriani, Kak Roberth** dan **Mba Ola**, serta keponakan tersayang **Shelter** dan **Josh**.
2. Bapak **Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc** selaku pembimbing utama serta **Drs. F. W. Mandey, M.Sc** selaku pembimbing pertama, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan dalam mengarahkan penulis mulai dari penyusunan proposal hingga tersusunnya laporan hasil penelitian ini.
3. Tim Penguji Sarjana, Bapak **Prof. Dr. Ahyar Ahmad** (ketua), Bapak **Maming, M.Si** (Sekretaris), Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si** (anggota). Terima kasih atas saran dan masukannya.



4. Ketua dan sekretaris departemen kimia serta seluruh dosen yang telah membagi ilmunya kepada penulis selama 4 tahun menempuh pendidikan, terkhusus Bapak **Dr. Yusafir Hala, M.Si** selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama masa perkuliahan.
5. Staf dan seluruh analis departemen kimia fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
6. *Honeybee* geng **Uni, Ainun, Rani** dan **Vitra**, terima kasih atas kerjasamanya dari awal pengambilan sampel (sampai dikejar lebah) hingga akhirnya penyusunan tugas akhir .
7. Teman-teman seangkatan 2014, terkhusus **Widya, Ainun, Salmiyah** dan **Deca** buat segala bantuan dan semangatnya.
8. *Big thanks to Latiana, Desri* dan *Lola, my beloved bestfriends*, buat dukungan doa, saran dan sharingnya yang membangun dan menguatkan dan segala semangat yang telah diberikan kepada penulis.

Penulis sadar akan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dalam penulisan selanjutnya. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca dan peneliti berikutnya.

Penulis

2018



## ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif pada madu serta menguji aktivitas antioksidan senyawa aktif dari madu hutan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol memberikan hasil positif pada flavonoid, tanin, saponin, steroid dan alkaloid dengan nilai  $IC_{50}$  metode DPPH sebesar 683,153  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak DCM memberikan hasil positif tanin, steroid dan alkaloid dengan nilai  $IC_{50}$  701,743  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak n-heksan positif mengandung tanin dan alkaloid dengan nilai  $IC_{50}$  1709,536  $\mu\text{g/mL}$ , ekstrak air positif tanin, saponin, steroid, alkaloid dengan nilai  $IC_{50}$  1698,345  $\mu\text{g/mL}$ . Sampel madu positif mengandung semua aspek yang diujikan dengan nilai  $IC_{50}$  2826,471  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini menunjukkan ekstrak dan sampel memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Kata Kunci : ekstrak,  $IC_{50}$ , madu, senyawa aktif,



## ABSTRACT

The aim of this research to isolate and identify and to test the antioxidant activity of active compounds in honey. The result showed that methanol gave results in flavonoid, tannin, saponin, steroid and alkaloid with  $IC_{50}$  value of DPPH method of 683,153  $\mu\text{g/mL}$ . DCM extract gave positive results for tannin, steroid and alkaloid with  $IC_{50}$  values of 701,743  $\mu\text{g/mL}$ . N-hexane extract positively contains tannin and alkaloid with  $IC_{50}$  1709,536  $\mu\text{g/mL}$ , water extract positively contains of tannin, saponin, steroid, alkaloid with  $IC_{50}$  value 1698,345  $\mu\text{g/mL}$ . Pure honey contain all aspects tested with  $IC_{50}$  values 2826,471  $\mu\text{g/mL}$ . This showed extracts and samples have very weak antioxidant activity.

Keywords : active compound, extract, honey,  $IC_{50}$



## DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Gambaran Umum Madu.....	5
2.2 Komposisi Madu.....	8
2.3 Radikal Bebas.....	11
2.4 Antioksidan.....	13
2.5 Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil).....	15
2.6 <i>Apis dorsata</i> .....	16



BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Alat Penelitian .....	18
3.3 Waktu Dan Tempat Penelitian .....	18
3.4 Prosedur Penelitian.....	18
3.4.1 Pengolahan Sampel .....	18
3.4.2 Ekstraksi Madu dengan Metanol.....	19
3.4.3 Ekstraksi Madu dengan Pelarut Air .....	19
3.4.4 Ekstraksi Madu dengan Pelarut DCM.....	19
3.4.5 Ekstraksi Madu dengan Pelarut n-Heksan .....	20
3.4.6 Uji Fitokimia .....	20
3.4.6.1 Uji Alkaloid.....	20
3.4.6.2 Uji Flavonoid.....	21
3.4.6.3 Uji Tanin .....	21
3.4.6.4 Uji Steroid .....	21
3.4.6.5 Uji Saponin.....	21
3.4.7 Uji Bioaktivitas .....	22
3.4.7.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM.....	22
3.4.7.2 Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 500 ppm .....	22
3.4.7.3 Pembuatan Larutan Induk Ekstrak n-Heksan 500 ppm.....	22
3.4.7.4 Pembuatan Larutan Induk Ekstrak DCM 500 ppm .....	22
3.4.7.5 Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Metanol 500 ppm.....	22
3.4.7.6 Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Air 500 ppm.....	23
3.4.7.7 Pembuatan Larutan Induk Sampel Madu 500 ppm .....	23



3.4.7.8 Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH .....	23
3.4.7.9 Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Sampel dengan Metode DPPH .....	24
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
4.1 Maserasi Sampel .....	25
4.2 Uji Fitokimia .....	26
4.3 Uji Bioaktivitas .....	31
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>39</b>
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>45</b>



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Komposisi Madu .....	9
2. Hasil Uji Fitokimia Ekstak Sarang Madu dan Madu .....	10
3. Data Pengujian Kandungan Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol, DCM, Heksan, Air dan Sampel Madu .....	26
4. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Sampel Madu.....	33
5. Data Hasil Uji IC <sub>50</sub> Ekstrak dan Sampel.....	35
6. Data Hasil Uji IC <sub>50</sub> Asam Askorbat.....	37



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Madu Hutan.....	6
2. Struktur Struktur 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl.....	12
3. Struktur Dasar Flavonoid.....	14
4. Reaksi antara DPPH dengan Senyawa Antioksidan.....	15
5. Mekanisme Pembentukan Garam Flavilium.....	27
6. Reaksi Uji Fitokimia Tanin.....	28
7. Reaksi Uji Fitokimia Steroid.....	29
8. Reaksi Uji Fitokimia Alkaloid.....	30
9. Reaksi Uji Fitokimia Saponin.....	31
10. Reaksi Flavonon dengan DPPH.....	32
11. Diagram Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Madu.....	34
12. Grafik Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak dan Sampel Madu.....	36



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
13. Skema Prosedur Kerja.....	45
14. Kurva Pengukuran Aktivitas Antioksidan .....	53
15. Perhitungan Pembuatan Larutan Induk.....	62
16. Perhitungan Pembuatan Deret Standar.....	65
17. Dokumentasi Penelitian .....	71



## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

DPPH	: <i>1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl</i>
IC	: <i>Inhibitor Concentration</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
UV	: Ultra Violet
DCM	: <i>dicholormethane</i>
nm	: nanometer
ppm	: part per million
Vis	: Visible
kg	: kilogram
$\mu\text{g/mL}$	: mikro gram per mililiter
$^{\circ}\text{C}$	: derajat celcius
g	: gram
p.a	: pro analisis
mL	: mililiter
mg/mL	: miligram per mililiter
mg	: miligram



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perkembangan zaman yang semakin maju setiap harinya menyebabkan terjadinya perubahan dari pola hidup manusia menjadi kurang sehat misalnya dalam hal makanan. Makanan instan cepat saji dipilih sebagai alternatif utama tanpa memikirkan efek yang ditimbulkannya. Bahaya makanan dan minuman, bahaya lingkungan yang berasal dari radiasi, polusi, asap rokok serta pola hidup yang tidak sehat dapat memicu terbentuknya radikal bebas (Idris, 2017).

Radikal bebas adalah spesi yang reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Pembentukan spesi ini di dalam tubuh dipicu oleh berbagai faktor antara lain ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Proses metabolisme seringkali terjadi keadaan yang memungkinkan elektron berada pada kondisi tidak stabil sehingga terbentuk radikal bebas seperti superoksida, hidroksil dan lain-lain (Winarsi, 2007). Dalam upaya radikal bebas menstabilkan diri, radikal bebas ini akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan gangguan kesehatan berupa penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan bahan yang penting yaitu antioksidan untuk menangkap radikal

sebut dan menstabilkannya sehingga tidak mengganggu kesehatan tubuh (Idris dkk., 2002; Sibuea, 2003).



Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron atau reduktor yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mencegah pembentukan radikal. Antioksidan juga dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Antioksidan di dalam tubuh dapat menetralkan radikal bebas seperti enzim superoksida dismutase, glutathionin dan katalase. Antioksidan ini dapat diperoleh dari asupan makanan yang mengandung vitamin C, vitamin E, betakaroten serta senyawa fenolik (Prakash, 2001; Trevor, 1995).

Salah satu jenis bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah madu. Madu cairan manis yang berasal dari nektar tanaman yang diproses oleh lebah dan disimpan dalam sel-sel sarang lebah (Adriani, 2011). Jenis madu berdasarkan sumber nektarnya dapat dibagi menjadi dua, yaitu monoflora dan poliflora. Madu monoflora merupakan madu yang diperoleh dari satu tumbuhan utama. Madu monoflora juga disebut madu ternak. Madu poliflora merupakan madu yang berasal dari nektar beberapa jenis tumbuhan bunga. Contoh dari madu jenis ini adalah madu hutan (Suranto, 2007). Tiap jenis madu memiliki efek radikal bebas yang berbeda-beda dimana jumlah dan kandungan antioksidannya sangat bergantung dari sumber nektarnya (Ratnayani dkk., 2012).

Kandungan nutrisi dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan adalah vitamin C, asam organik, enzim, asam fenolat, flavonoid dan beta karoten yang bermanfaat sebagai antioksidan tinggi (Gheldof, 2002). Flavonoid dan asam fenolat mampu menangkap radikal bebas sehingga membentuk radikal baru yang

lebih stabil dan tidak berbahaya bagi tubuh (Widyaningsih, 2010). Banyak

(apigenin, pinosembrin, pinobanksin, kaemferol, kuarsetin, galangin,



krisin, dan luteolin) dan asam fenolat (kafein, galat, sinamat, *protocatechuic*, p-kumarik dan asam klorogenik) telah diidentifikasi dalam madu. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa madu berfungsi sebagai sumber antioksidan alami yang efektif mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, penurunan sistem kekebalan tubuh, katarak, proses inflamasi yang berbeda dan sebagainya (Vulic dkk., 2015).

Pengukuran aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas dapat dilakukan dalam beberapa cara seperti 1,1-*difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), *Cupric Ion Reducing Antioxidant* (CUPRAC) dan *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP) (Putri, 2014). Metode yang digunakan dalam penentuan antioksidan madu adalah metode DPPH (1,1-*difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan seperti aktivitas penangkapan radikal bebas yang tinggi dalam pelarut organik seperti metanol atau etanol pada suhu kamar, metodenya sederhana, menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dalam waktu yang singkat dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis (Salamah dan Widyasari, 2015).

Penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, n-heksan, DCM dan air. Pelarut yang digunakan bertujuan menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam madu berdasarkan perbedaan kepolaran dari pelarut. Penggunaan pelarut ini mengacu pada penelitian Cahyati dan Miladiyah (2014) yang menggunakan pelarut metanol untuk menarik komponen fenolat yang terdapat dalam madu kopi, madu sawit, madu randu dan

yang sumber nektarnya berasal dari pohon kopi, pohon sawit, pohon  
ta pohon rambutan. Berdasarkan uraian tersebut sehingga mendorong



peneliti untuk mengetahui lebih jauh efek antioksidan dari madu dengan menggunakan pelarut yang berbeda.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini, antara lain:

1. kandungan senyawa aktif apa yang terdapat dalam madu poliflora?
2. apakah senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan?

## **1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Maksud Penelitian**

Penelitian ini dimaksudkan untuk melakukan skrining senyawa aktif yang terdapat dalam madu dan menguji potensinya sebagai antioksidan.

### **1.3.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif pada madu poliflora.
2. menguji aktivitas senyawa aktif dari madu sebagai antioksidan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi madu sebagai salah satu sumber daya alam hutan penghasil senyawa aktif sebagai antioksidan dan memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan dan penelitian mengenai madu.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Gambaran Umum Madu

Madu merupakan cairan kental, berwarna kuning, manis dan memberi rasa pada bahan makanan, dengan nilai biologis dan kalori (mengandung gula, vitamin dan enzim), dikumpulkan dan diproduksi oleh lebah dari nektar atau jus manis yang dapat ditemukan di berbagai bagian tanaman dan pohon, yang memiliki banyak kegunaan tergantung dari jenisnya madu (Maria dkk., 1918). Madu alami merupakan produk yang dihasilkan dari nektar dan simpanan manis yang dikumpulkan dari berbagai sumber bunga yang diubah dan disimpan oleh lebah madu di dalam sarangnya (Umarani dkk, 2015). Ada dua faktor yang diperlukan untuk menghasilkan madu yaitu bunga yang nektarnya merupakan bahan baku pembuatan madu dan serangga yaitu lebah yang merupakan tenaga ahlinya (Sarwono, 2011).

Madu adalah makanan alami yang diakui seluruh dunia memiliki nilai gizi yang tinggi dan memiliki banyak efek kesehatan yang menguntungkan. Madu umumnya terdiri dari karbohidrat (minimal 60% dengan perbandingan massa) dan memiliki kemampuan khusus untuk mengurangi gula seperti fruktosa dan glukosa sebagai sumber energi yang cepat setelah dikonsumsi. Komponen minor dalam madu termasuk asam amino, vitamin, asam organik, mineral dan berbagai fitokimia (Chua dan Adnan, 2014)

Sejak ribuan tahun yang lalu sampai sekarang ini, madu telah dikenal sebagai salah satu bahan makanan atau minuman alami yang mempunyai peranan



penting dalam kehidupan. Madu memiliki manfaat dalam berbagai aspek, antara lain dari segi pangan, kesehatan dan kecantikan. Madu merupakan salah satu obat tradisional tertua yang dianggap penting untuk pengobatan penyakit pernafasan, infeksi saluran pencernaan dan bermacam macam penyakit lainnya. (Mulu dkk., 2004). Gambar 1 merupakan sarang lebah sumber madu hutan yang diambil di hutan Desa Sadar, Dusun Kajuara, Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan.



**Gambar 1.** Sarang Lebah Sumber Madu Hutan

Madu yang digunakan pada zaman dulu umumnya merupakan madu yang dapat diambil dari pohon yang terdapat dalam hutan yaitu madu hutan. Madu hutan dipanen langsung dari pohon di hutan tanpa proses penangkaran lebah. Madu hutan dihasilkan oleh lebah *Apis dorsata* yaitu jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan karena sifatnya yang agresif dan liar (Muslim, 2014). Sumber pakan dari lebah ini adalah tumbuh- tumbuhan obat yang banyak tumbuh di dalam hutan hujan tropis di Indonesia. Madu hutan juga sangat baik untuk kesehatan mengandung antibiotik alami (Suranto, 2007).



Madu berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi madu monoflora, madu poliflora dan madu ektraflora. Madu monoflora merupakan madu yang diperoleh dari satu tumbuhan utama. Madu monoflora disebut madu ternak, karena lebah yang menghasilkan madu jenis ini pada umumnya ditenakkan. Sedangkan madu poliflora merupakan madu yang berasal dari nektar beberapa jenis tumbuhan bunga. Contoh dari madu jenis ini adalah madu hutan (Sarwono, 2001). Madu ektraflora atau madu embun adalah madu yang dihasilkan dari nektar di luar bunga, seperti daun, cabang dan batang tanaman. Madu embun dihasilkan dari cairan hasil sekresi serangga, yang kemudian eksudatnya diletakkan dibagian tanaman. Selanjutnya cairan itu dihisap dan dikumpulkan oleh lebah madu. Madu ini berwarna gelap dengan aroma merangsang (Sarwono, 2001).

Produksi lebah madu hutan memiliki kelebihan dibandingkan dengan lebah madu lain diantaranya yaitu hasil dari nektar yang dikumpulkan lebah terasa manis dan aromanya tajam serta menyengat. Selain itu, lebah hanya mengambil makanan langsung dari alam sehingga hasil madunya tidak bercampur racun dari pestisida (Muslim, 2014). Madu hutan juga memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi karena mengandung vitamin, beta karoten, flavonoid, asam fenolat, polifenol, asam urat dan asam nikotinat (Soleha, 2015).

Kualitas madu ditentukan oleh beberapa hal diantaranya waktu pemanenan madu, kadar air, warna madu, rasa dan aroma madu. Waktu pemanenan madu harus dilakukan pada saat yang tepat, yaitu ketika madu telah matang dan rongga

madu mulai ditutup oleh lebah. Madu bersifat menyerap air sehingga akan menjadi encer dan akan menyerap kelembaban udara sekitarnya. Madu yang



normal dengan kadar air 18,8% atau kurang akan menyerap kelembaban dari udara lebih dari 60%. Pemrosesan atau penyimpanan akan berpengaruh pada higroskopisitas sehingga menyebabkan kandungan air yang akan bertambah (Olaitan dkk., 2007).

## 2.2 Komposisi Kimiawi Madu

Madu dilaporkan mengandung sekitar 200 zat (campuran gula kompleks dan juga sejumlah kecil unsur penyusun lainnya seperti mineral, protein, vitamin, asam organik, flavonoid, asam fenolat, enzim dan fitokimia lainnya) (White, 1978). Pada umumnya madu memiliki komposisi sebagai berikut: air 17%, fruktosa 38,19%, glukosa 31,29%, sukrosa 1,31%, gula lainnya 8,8%, total asam 0,57%, abu 0,169%, nitrogen 0,041%, dan lain-lain 2,43% (Bogdanov dkk., 1997). Asam organik banyak ditemukan dalam madu diantaranya laktat, format, butirrat, tartarat, piruvat, asetat, sitrat, oksalat sukinat, malat, meleat, piroglutamat dan lainnya. Asam-asam organik ini dihasilkan dari enzim glukosa oksidase pada dekstroza (Mato dkk., 2003).

Komposisi kimia madu dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: komposisi nektar asal madu, keadaan iklim, topografi, jenis lebah, cara pengolahan dan penyimpanan (Sihombing, 1997). Asam amino, karbohidrat, protein, beberapa jenis vitamin serta mineral adalah zat gizi dalam madu yang mudah diserap oleh sel-sel tubuh. Sifat antioksidan dari madu telah banyak dikenal karena diketahui terdiri dari senyawa dengan sifat antioksidan seperti

, asam fenolat, protein, asam amino, asam askorbat, HMF dan beberapa heldof dan Engseth, 2002). Polifenol antioksidan yang terpenting adalah



flavonoid dan asam fenolat (Makawi dkk., 2009). Tabel 1 menunjukkan rata-rata komposisi madu untuk masing-masing komponen.

**Tabel 1.** Komposisi Madu (Bogdanov dkk., 2008)

Komponen	Madu Hutan	
	Nilai rata-rata (g/100 g)	Rentang nilai (g/100g)
Kadar air	16,3	15-20
Fruktosa	31,8	28-40
Glukosa	26,1	19-32
Sukrosa	0,5	0,1-4,7
Disakarida lainnya	4,0	1-6
Melezitose	4,0	0,3-22,0
Erlöse	1,0	0,1-6
Oligosakarida lainnya	3,0	0,1-6
Gula total	80,5	-
Mineral	0,9	0,6-2,0
Asam amino,protein	0,6	0,4-0,7
Asam	1,1	0,8-1,5
pH	5,2	4,5-6,5

Kandungan nutrisi dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan adalah vitamin C, asam organik, enzim, asam fenolat, flavonoid dan beta karoten yang bermanfaat sebagai antioksidan tinggi (Gheldof dan Engseth, 2002). Senyawa

aktivitas antioksidan yang diteliti adalah senyawa fenolat. Senyawa dalam tumbuhan dapat berupa fenol, antraquinon, asam fenolat, kumarin,



flavonoid, lignin dan tanin (Harborne, 1987). Senyawa fenolat telah diketahui memiliki berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkhelat logam, peredam terbentuknya oksigen singlet serta pendonor elektron (Gheldof dan Engeseth, 2002). Pada tabel 2 menunjukkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak sarang madu dan madu.

**Tabel 2.** Hasil Uji Fitokimia Ekstak Sarang Madu dan Madu (Idris, 2017).

Sampel	Uji Pendahuluan		
	Flavonoid	Asam Fenolik	Tanin
Kanton Madu	+	+	+
Kantong Polen	+	+	+
Propolis	+	+	+
Kantong Telur	+	+	+
Madu	+	+	-

Unsur mineral merupakan salah satu komponen yang sangat diperlukan oleh makhluk hidup selain karbohidrat, lemak, protein dan vitamin (Davis dan Mertz, 1987). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui kandungan total mineral dalam madu sekitar 0,04 - 0,02 %. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi komposisi mineral yang terdapat pada madu, termasuk jenis tanah, sumber bunga, kondisi iklim, pemupukan dan variabilitas yang besar (White, 1978; Anklam, 1998).

Madu mengandung beberapa enzim yang diantaranya katalase, glukosa dan peroksidase serta kandungan non enzimatik seperti karatenoid, asam



amino, protein, asam organik, produk reaksi Maillard dan lebih dari 150 senyawa polifenol termasuk flavonols, asam fenolik, katekin dan turunan asam sinamat yang dapat mendukung sifat antioksidan dari madu (Ferreira dkk., 2009).

### 2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Reaksi dari radikal bebas akan berlangsung secara terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini dan lain-lain. Oleh karena itu, tubuh memerlukan substansi penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Anonim, 2006).

Senyawa ini terbentuk dalam tubuh karena dipicu oleh banyak faktor misalnya komponen makanan diubah menjadi energi melalui metabolisme. Pada proses metabolisme ini seringkali terjadi kebocoran elektron sehingga sangat mudah terbentuk radikal bebas seperti anion superoksida, hidroksil dan lainnya. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang pada awalnya bukan radikal bebas tetapi mudah menjadi radikal bebas seperti hidrogen peroksida, ozon dan lainnya. Kelompok senyawa itu sering disebut senyawa oksigen reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Winarsi, 2007).

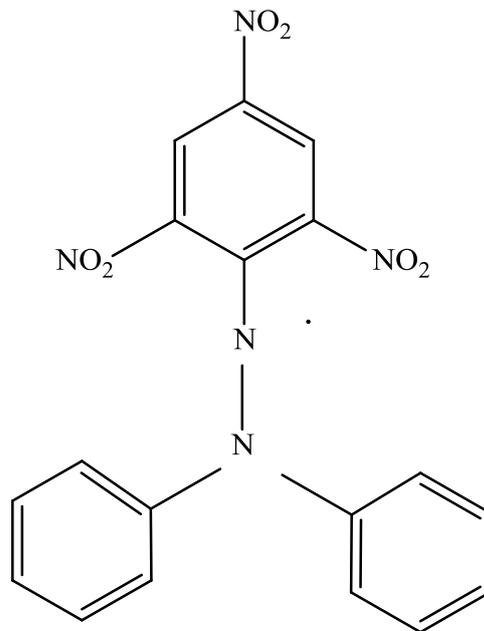
Reaksi oksidasi merupakan salah satu reaksi yang menyebabkan

nya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur serta sel. Namun reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem



antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Radikal bebas juga bisa terbentuk ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme yang memungkinkan terbentuknya radikal bebas seperti anion superoksida, hidroksil dan lainnya (Winarsi, 2007).

Radikal bebas bersifat tidak stabil, sangat reaktif dan dapat mengambil elektron dari molekul lain untuk mendapatkan pasangan elektronnya. Molekul yang kehilangan elektron akan bersifat reaktif, terutama asam lemak tidak jenuh yang kemudian ditransformasikan menjadi radikal bebas yang sangat reaktif (Simon dkk., 2000). Radikal bebas yang terbentuk secara cepat akan menarik elektron makromolekul biologis yang berada di sekitarnya seperti protein dan asam nukleat (DNA) (Halliwell and Gutteridge, 1999). Gambar 2 merupakan struktur dari senyawa 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl salah satu radikal bebas yang bersifat tidak stabil.



Gambar 2. Struktur 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl (Yuhernita, 2011).



Jika makromolekul yang teroksidasi dan terdegradasi merupakan bagian dari sel atau organel, maka dapat mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut. Target utama radikal bebas adalah protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh, lipoprotein serta unsur-unsur DNA. Molekul-molekul target tersebut yang paling rentan terhadap radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh (Halliwell and Gutteridge, 1999). Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitas radikal bebas dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak seluruh tipe makromolekul seluler seperti karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat (Langseth, 2000). Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan menangkap radikal bebas adalah dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Molyneux, 2004).

## 2.4 Antioksidan

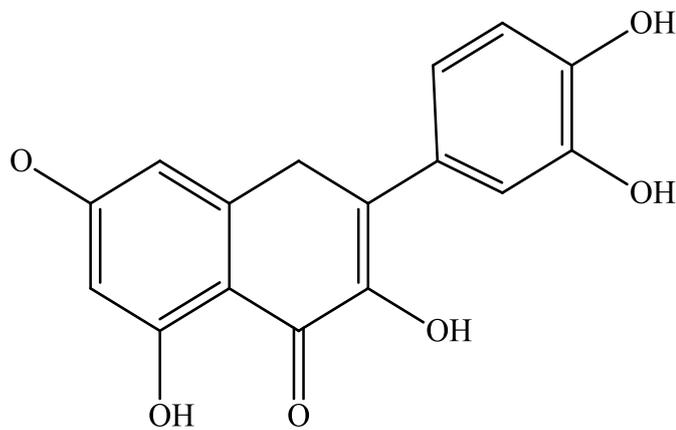
Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihan akan menyerang komponen lipid, protein maupun DNA sehingga mengakibatkan

n-kerusakan yang disebut stress oksidatif (Winarsi, 2007). Antioksidan  
han makanan dapat berasal dari kelompok yang terdiri atas satu atau



lebih komponen pangan, substansi yang dibentuk dari reaksi selama pengolahan atau dari bahan tambahan pangan yang khusus diisolasi dari sumber-sumber alami dan ditambahkan ke dalam bahan makanan. Adanya antioksidan alami maupun sintesis dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan dan degradasi komponen organik dalam bahan makanan sehingga dapat memperpanjang umur simpan (Rohdiana, 2001). Pada Gambar 3 merupakan struktur flavonoid salah satu sumber antioksidan.



**Gambar 3.** Struktur Dasar Flavonoid (Redha, 2010)

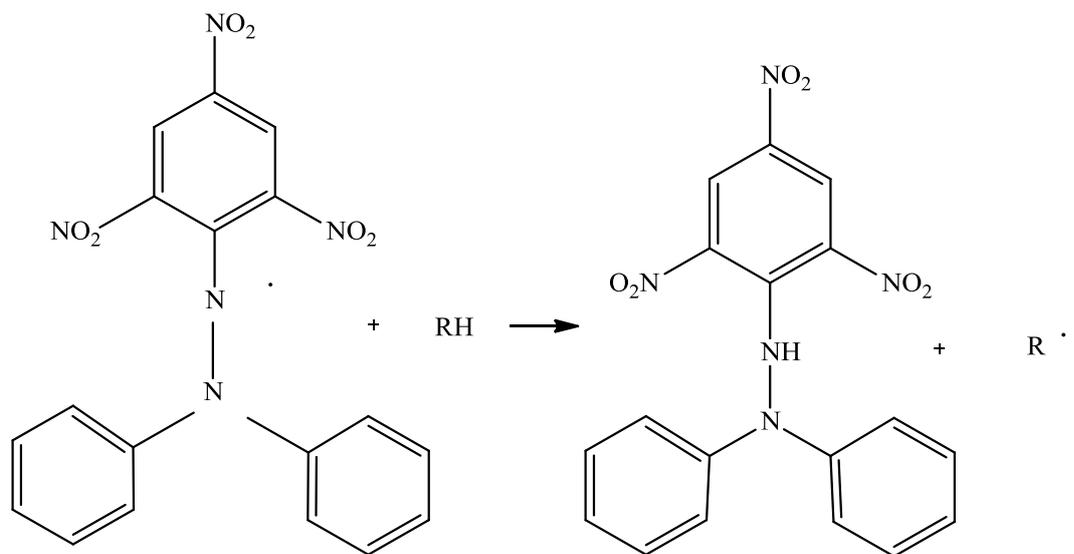
Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase), vitamin (misalnya vitamin E, C, A dan  $\beta$ -karoten) dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin dan lainnya). Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama terhadap kondisi stress oksidatif yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal baru. Selain antioksidan yang bersifat enzimatis ada

g berupa senyaw nutrisi maupun non-nutrisi yang dapat diperoleh dari bahan makanan (Winarsi, 2007).



Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang banyak digunakan sebagai antioksidan. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6 yang memiliki satu cincin aromatic A, satu cincin aromatic B serta cincin tengah heterosiklik yang mengandung oksigen (Hess, 1975). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkhelat logam, berada dalam bentuk glikosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppsett, 1954).

### 2.5 Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)



**Gambar 4.** Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan (Frindryani, 2016)

Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal atau antioksidan. Uji kimia ini secara luas digunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia dan untuk mengkaji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam



menyerap radikal bebas. Metode DPPH berfungsi untuk mengatur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas (Pratimasari, 2009). Metode ini merupakan metode yang cepat, sederhana dan tidak membutuhkan biaya yang tinggi dalam menentukan kemeaman antioksidan menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (Prakash, 2001).

Metode DPPH memberikan warna yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap (Molyneux, 2004). Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu elektron tunggal DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan (Dehpour dkk., 2009). Metode ini dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Prakash, 2001).

## 2.6 *Apis Dorsata*

*Apis dorsata* merupakan lebah madu yang dapat ditemukan hampir di seluruh kepulauan di Indonesia kecuali Maluku dan Irian Jaya (Ruttner, 1988). Secara morfologis, *A. dorsata* merupakan spesies lebah madu asli Indonesia dengan ukuran tubuh paling besar. Selain itu spesies ini juga terkenal sangat agresif di bandingkan dengan spesies lebah madu lain yang terdapat di Indonesia (Hadiseosilo, 2001). Dua dari tiga subspecies *A. dorsata* yaitu *A. dorsata dorsata* dan *A.d. binghami* terdapat di Indonesia dan subspecies ketiga *A.d. breviligula* terdapat di Filipina (Sakagami dkk., 1980). Menurut Maa (1953), subspecies

*ta binghami* yang terdapat di pulau Sulawesi dan pulau sekitarnya merupakan spesies tersendiri, yaitu *A. binghami* Cockerell.



Lebah madu *Apis dorsata* dalam bahasa Indonesia disebut lebah hutan atau lebah raksasa. Lebah ini hidup di hutan lebat sebagai lebah madu liar. Sampai sekarang belum pernah ditenakkan dalam stup. Madu dan lilin yang dihasilkannya merupakan produk terbaik dan madunya lebih encer daripada madu lebah biasa. Panjang lebah madu pekerja sekitar 1,9 cm. Satu koloni terdiri dari sisiran sarang yang sangat besar yang dihuni sampai berjuta-juta ekor lebah. Sarang bagian atas digunakan untuk menyimpan madu dimana tebalnya sekitar 10 cm dan sarang bagian bawah dengan tebal 4 cm sebagai tempat mengerami telur. Lebah raksasa *Apis dorsata* merupakan lebah paling produktif dimana satu sisir sarang dapat menyimpan madu sebanyak 10-20 kg (Sarwono, 2001).

