

## Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Content of Honey Bee

Narti Fitriana<sup>1\*</sup>, Risyah Raisyah<sup>1</sup>, Siti Nurbayti<sup>2</sup>, Festy Auliaur Rahmah<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H. Juanda No. 95 Ciputat, Indonesia

<sup>2</sup> Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H. Juanda No. 95 Ciputat, Indonesia

<sup>3</sup> Pranata Laboratorium Pendidikan, Pusat Laboratorium Terpadu, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H. Juanda No. 95 Ciputat, Indonesia

\*Correspondence author : narti.fitriana@uinjkt.ac.id

### ABSTRACT

*Honey is a natural product that has many benefits, for living organism. The composition of honey is very diverse and depends on the type of honey and the region of origin. Bioactive compounds in honey including phenolics and flavonoids cause honey to having antioxidant activity. This study aims to identify honey bees, determine the chemical properties of honey based on the parameters of water content, acidity, and reducing sugar, and analyze the antioxidant activity and phenolic and flavonoid content of honey from Bukit Tiga Puluh National Park Riau and Prabumulih South Sumatra. The research using descriptive method were morphological identification of bees, testing parameters of honey bee chemical properties, DPPH antioxidant test to obtain IC<sub>50</sub> (Inhibition concentration) values, total phenolic and flavonoid levels. The identified bees are Apis mellifera (from Riau) and A. dorsata (from Prabumulih). This essay showed that the determination of water content, acidity, reducing sugar, both honeys fulfill SNI 8664:2018 except the reducing sugar of A. dorsata honey bee. A. dorsata honey bee has antioxidant activity higher IC<sub>50</sub> value (590 mg/L) than A. mellifera honey (678 mg/L). Total phenolic (TPC) and flavonoid (TFC) of A. mellifera honey were 7.51 mg GAE/g and 0.06 mg QE/g, respectively higher than A. dorsata honey bee (3.35 mg GAE/g and 0.42 mg QE/g).*

**Keywords:** Antioxidant; Bee; Flavonoids; Honey; Phenolic

### ABSTRAK

Madu adalah produk alami yang memiliki banyak manfaat salah satunya di bidang kesehatan. Komposisi madu sangat beragam, tergantung dari jenis madu dan daerah asal. Senyawa bioaktif madu diantaranya fenolik dan flavonoid menyebabkan madu memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi lebah penghasil madu, menentukan sifat kimia madu berdasarkan parameter kadar air, keasaman, dan gula reduksi, serta menganalisis aktivitas antioksidan serta kandungan fenolik dan flavonoid madu dari Taman Nasional Bukit Tiga Puluh Riau dan Prabumulih Sumatera Selatan. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan identifikasi lebah secara morfologi, uji parameter sifat kimia madu, uji antioksidan DPPH untuk memperoleh nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibition concentration*), dan

uji kadar fenolik dan flavonoid total. Lebah yang teridentifikasi adalah *Apis mellifera* asal Riau dan *A. dorsata* asal Prabumulih.. Berdasarkan hasil penentuan kadar air, keasaman, dan gula reduksi kedua madu memenuhi SNI 8664:2018 kecuali gula reduksi madu *A. dorsata* yaitu kurang dari 65%. Madu lebah *A. dorsata* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> lebih kuat (590 mg/L.) dibandingkan madu lebah *A. mellifera* (678 mg/L). Total fenolik (TPC) dan flavonoid (TFC) madu *A. mellifera* berturut-turut sebesar 7,51 mg GAE/g dan 0,06 mg QE/g lebih tinggi dari madu *A. dorsata* yaitu 3,35 mg GAE/g dan 0,42 mg QE/g.

**Kata kunci:** Antioksidan; *Lebah*; Fenolik; Flavonoid; Madu



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2023 by author.

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia dianugerahi kekayaan flora ditambah dengan luasnya lahan pertanian, perkebunan dan hutan berpotensi besar sebagai sumber nektar pakan lebah. Badan Pusat Statistik mencatat, produksi madu di Indonesia pada tahun 2019 mencapai 498.000 liter (Badan Pusat Statistik, 2020). Di Indonesia produksi madu didominasi oleh lebah liar *Apis dorsata* dengan produktivitas mencapai 50 – 60 liter per tahun, disusul oleh produktivitas lebah *Apis mellifera* yang menghasilkan 35 – 40 liter per tahun (Juniarti, 2019). Salah satu daerah penghasil lebah di Sumatera adalah Taman Nasional Bukit Tiga Puluh (TNBTP) di Propinsi Riau dan Prabumulih di Propinsi Sumatera Selatan.

Madu memiliki tempat istimewa sebagai produk yang berkhasiat dalam pengobatan tradisional selama berabad-abad. Dilihat segi pemasaran produk, madu merupakan bahan bernilai ekonomis tinggi yang menjadi bahan baku sekitar lebih dari 200 macam industry seperti industry farmasi. Penemuan pada pengobatan modern menyebutkan bahwa madu mengandung zat antimikroba dan antibakteri yang didukung dari berbagai hasil studi (Fahay et al., 2022). Kesehatan masyarakat yang terkadang memburuk di era modern saat ini, terjadi karena perubahan pola hidup tidak sehat, seperti mengonsumsi makanan dengan nutrisi tidak seimbang, merokok dan kebiasaan tidak sehat lainnya, ditambah kondisi lingkungan yang semakin menurun kualitasnya, menjadi penyebab penurunan kesehatan masyarakat (Arnanda et al., 2019). Hal ini dikhawatirkan akan meningkatkan akumulasi radikal bebas tubuh, akibatnya tubuh dapat mengalami stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu ketidakseimbangan produksi dan akumulasi radikal bebas dengan sistem penetralnya yaitu antioksidan (Tyagita et al., 2021).

Apabila antioksidan dalam tubuh tidak dapat mengimbangi terjadinya oksidasi maka senyawa radikal akan mengganggu sel-sel dalam tubuh terutama lipid dan protein yang berimplikasi pada timbulnya penyakit-penyakit degeneratif akibat penuaan dini (Arnanda et al., 2019).

Tubuh dapat menghasilkan antioksidan endogen yang berperan sebagai senyawa penjaga dari radikal bebas dalam jumlah tertentu diperlukan asupan makanan dengan kandungan antioksidan. Antioksidan eksogen dapat diperoleh dalam bentuk sintetik atau secara alami. Sejauh ini diketahui buah dan sayur merupakan makanan tinggi antioksidan. Bahan pangan alami lain yang memiliki potensi sebagai sumber antioksidan adalah madu. Goslinski et al. (2021) melaporkan kandungan oksidan 21 sampel madu dari berbagai negara, kandungan antioksidan tertinggi terdapat pada *beech honeydew* dan madu asal New Zealand. Keberadaan antioksidan madu pada madu dikarenakan terdapatnya senyawa fenol, flavonoid dan beberapa vitamin (Cahyaningrum et al., 2019). Sejauh ini, belum banyak informasi tentang aktivitas antioksidan pada madu serta kandungan total fenolik dan flavonoid sehingga penelitian ini penting untuk dilakukan.

## **2. METODE**

### **2.1. Identifikasi jenis lebah**

Penelitian ini menggunakan metode servei. Sampel lebah dikoleksi menggunakan jarring serangga, dimatikan dalam botol pembunuh dan disimpan dalam botol koleksi berisi alcohol 70% serta diberi label. Pengamatan karakter morfologi spesimen lebah madu didasarkan pada karakteristik ukuran tubuh secara keseluruhan, kepala, toraks, abdomen, tungkai belakang, dan sayap. Lebah kemudian diidentifikasi jenisnya berdasarkan kunci determinasi dari berbagai literatur, dan diverifikasi di Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong.

### **2.2. Penentuan beberapa sifat kimia madu meliputi kadar air, keasaman/pH dan kandungan gula reduksi**

Prosedur yang digunakan merupakan modifikasi prosedur yang dilaporkan oleh Sjamsiah et al., (2018) Prosedur dilakukan sebanyak 2 replikasi. Kadar air dihitung dengan rumus.

$$\text{Kadar air} = \frac{(A-(C-B))}{(A)} \times 100\%$$

#### **Keasaman**

Penentuan keasaman dilakukan sesuai prosedur SNI 8664:2018.

#### **Penentuan Kadar Gula Pereduksi**

Penentuan kadar gula dilakukan dengan pengukuran absorbansi gula pereduksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode Nelson Somogyi (Sudarmadji et al., 2010).

### 2.3. Penentuan Aktivitas Antioksidan Madu

Prosedur yang digunakan merupakan modifikasi dan hasil optimalisasi dari beberapa prosedur yang telah dilaporkan oleh Cahyaningrum et al. (2019). Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH secara spektrofotometri UV-Vis yang dinyatakan dengan  $IC_{50}$  untuk menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50%. Pengerjaan dilakukan sebanyak 2 replikasi.

### 2.4. Penentuan Total Kadar Fenolik dan Flavonoid

Analisis komponen fenolik total dan flavonoid total berdasarkan modifikasi prosedur yang telah disebutkan dalam Moniruzzaman et al. (2013) kandungan fenolik total pada sampel madu ditentukan dengan pengukuran absorbansi menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan tahapan sebagai berikut:

#### 1) Penetapan Panjang Gelombang ( $\lambda$ ) Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dari pengukuran serapan larutan asam galat. Pengujian dilakukan dengan mencampur 2 mL larutan asam galat dengan 2 mL akuades menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga diperoleh panjang gelombang maksimalnya.

#### 2) Pengukuran Serapan Blanko

Pengujian dilakukan dengan memasukan 2 mL reagen Folin-Ciocalteu dengan 2 mL akuades dalam tabung reaksi. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dengan *vortex* dan diukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapat.

#### 3) Pengukuran Absorbansi Sampel Madu

Sebanyak 0,5 g sampel madu ditambahkan dengan 20 mL akuades, diambil sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,3 mL reagen Folin-Ciocalteu, diamkan selama tiga menit. Setelah tiga menit tambahkan 2 mL  $Na_2CO_3$  15% dan disesuaikan volumenya menjadi 6 mL dengan menambahkan 2,2 mL akuades. Larutan diinkubasi pada suhu ruang di ruang gelap selama 60 menit kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang didapat. Pengukuran sampel direplikasi sebanyak 2 kali.

#### 4) Kalibrasi dengan Asam Galat

Ditimbang 5 mg asam galat diencerkan dengan 50 mL akuades sehingga kadarnya menjadi 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 5 deret variasi konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Ditambahkan 0,3 mL reagen Folin-Ciocalteu, diamkan selama 3 menit. Ditambahkan 2 mL  $Na_2CO_3$  15% dan disesuaikan volumenya menjadi 5 mL dengan menambahkan 2,2 mL akuades kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan diinkubasi pada suhu ruang di ruang gelap selama 60 menit kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 760 nm. Kandungan flavonoid total pada sampel madu ditentukan dengan metode pembentukan kompleks alumunium klorida dan dianalisis menggunakan spektrofotometri. Kandungan total fenolik dan flavonoid total diperoleh dari hasil mensubstitusikan absorbansi sampel ke dalam

persamaan regresi linear kalibrasi asam galat dan kalibrasi kuersetin. Persamaan regresi linear diperoleh dari kurva kalibrasi antara konsentrasi sebagai sumbu y dan absorbansi sebagai sumbu x.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Identifikasi Jenis Lebah

Identifikasi karakter morfologi dan morfometri spesimen didasarkan pada karakteristik kepala, torak, abdomen, tungkai belakang, dan sayap. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa lebah pekerja asal Prabumulih adalah *Apis dorsata* Fabricius, 1793 dan asal TNBTP adalah *A. mellifera* Linnaeus, 1758 (Gambar 1). Lebah *A. dorsata* merupakan lebah liar sementara *A. mellifera* merupakan lebah yang dibudidayakan. Hasil pengamatan sesuai dengan publikasi deskripsi Hadisoesilo (2001); Micheler (2007); Engel (2012); dan Nidup & Dorji (2016). Lebah *A. dorsata* dan *A. mellifera* termasuk ke dalam famili *Apidae*, subfamili *Apinae*, dan *tribe Apini* (Michener, 2007).

Karakter pembeda yang paling terlihat antara *A. dorsata* dengan *A. mellifera* adalah ukuran tubuh *A. dorsata* yang lebih besar. Tubuh *A. dorsata* dominan berwarna kehitaman (kepala dan tungkai), terdapat warna oranye pada sebagian segmen abdomen. Seluruh tubuhnya ditutupi rambut berwarna kecoklatan. Tubuh *A. mellifera* berwarna coklat juga terdapat warna oranye pada bagian segmen abdomen, serta rambut pada seluruh tubuhnya berwarna kekuningan. Antena *A. dorsata* berwarna coklat tua kehitaman dan *A. mellifera* berwarna coklat muda. Toraks *A. dorsata* berwarna hitam dan *A. mellifera* berwarna coklat muda. Femur *A. dorsata* berwarna hitam dan tibia berwarna coklat muda. Femur tungkai belakang *A. mellifera* coklat tua dan tibia berwarna coklat muda. Bagian tibia tungkai belakang pada lebah disebut *pollen basket* ditutupi oleh rambut kecoklatan yang sangat lebat. Lebah *A. mellifera* dan *A. dorsata* memiliki dua pasang sayap, sepasang sayap depan lebih besar ukurannya dibandingkan sayap belakang. Lebah *A. mellifera* dan *A. dorsata* memiliki sayap yang transparan, terdapat warna kecoklatan di bagian atas sayap *A. dorsata*.



**Gambar 1.** Karakter morfologi *Apis mellifera* meliputi kepala (a), dorsal torak (b), dorsal abdomen dan tungkai belakang (c), kepala *Apis dorsata* (d), dorsal torak dan kaki belakangnya

#### 3.2 Pengujian Sifat Kimia Madu

Mutu madu di Indonesia dikembangkan dengan mempertimbangkan keragaman produksi madu nasional untuk mendukung sistem akreditasi dan sertifikasi produk hasil hutan.

Persyaratan kualitas ditetapkan sebagai acuan atau standarisasi produk sebagai bentuk perlindungan terhadap konsumen. Standarisasi peraturan ini memperhitungkan sifat sensorik, fisikokimia, kemurnian, dan aktivitas enzim diastase madu dengan mengatur jumlah minimum atau maksimum yang terkait dengan parameter tersebut. SNI 8664:2018 merupakan acuan terbaru yang mengevaluasi bau, rasa, kadar air, gula pereduksi, sukrosa, keasaman, padatan tak larut, abu, hidroksimetilfurfural (HMF), dan kadar enzim diastase pada madu. Tampilan Hasil pengujian sifat kimia meliputi kadar air, keasaman dan gula pereduksi madu yang dihasilkan oleh *A. mellifera* (asal Riau) dan *A. dorsata* (asal Prabumulih) dibandingkan dengan SNI 8664:2018 (Tabel 1).

**Tabel 1.** Analisis kadar air, keasaman dan gula pereduksi madu asal *Apis mellifera* dan *Apis dorsata*

Parameter Pengujian	Satuan	Persyaratan SNI 8664:2018	Lebah penghasil madu	
			<i>A. mellifera</i>	<i>A. dorsata</i>
Kadar air	% b/b (g/100g)	maks. 22	21,69	20,28
Keasaman	mL NaOH/Kg	maks. 50	51,50	30,00
Gula pereduksi	% b/b (g/100g)	min. 65	68,00	46,80

Kedua jenis sampel madu memiliki kadar air di bawah 22%. Berdasarkan SNI 8664: 2018, kedua sampel merupakan madu yang berkualitas karena memenuhi standar tersebut. Beberapa penelitian lain juga melaporkan kadar air madu <22% seperti asal Malang (21,5%) yang dilaporkan oleh Triwanto et al., (2021). Sementara itu, Da Silva et al., (2016) melaporkan kadar air madu dari beberapa daerah seperti Eropa (kisaran 10,47-20,47%), Afrika (14,10-20,50%), Amerika (14,10–20,50%) serta peralihan benua Asia dengan Eropa di daerah Turki (17,40%). Penelitian Sjamsiah et al., (2018) melaporkan kadar air madu dari *A. dorsata* asal Maros, Sulawesi Selatan adalah 19,9%.

Variasi kadar air yang terdapat pada madu ditentukan oleh beberapa faktor seperti suhu udara, kelembapan udara serta sumber nektar/polen sebagai pakan lebah (Wilczyńska & Ruszkowska, 2014). Daerah Riau dan Prabumulih merupakan gambaran daerah daratan rendah dengan habitat yang tidak sama. Daerah TNBTP di Riau merupakan hutan heterogen dengan berbagai variasi tumbuhan berbunga sebagai sumber pakan *A. mellifera* sedangkan Prabumulih berdekatan dengan daerah monokultur yang didominasi oleh kelapa sawit sebagai sumber pakan utama *A. dorsata*. Gairola et al (2013) melaporkan bahwa kadar air pada madu dipengaruhi oleh waktu penyimpanan. Madu yang disimpan lebih lama biasanya mempunyai kadar air yang lebih tinggi yang diserap dari udara.

Kadar air madu *A. mellifera* lebih tinggi dibandingkan dengan madu *A. dorsata*. Sarang madu *A. dorsata* terletak pada pohon mangga yang tinggi sementara sarang *A. mellifera* dekat dengan permukaan tanah. Sasongko & Junus (2012) menyatakan bahwa kadar air madu dari sarang lebah yang sedikit mendapat paparan cahaya matahari menyebabkan suhu udara dalam sarang menjadi rendah sehingga kelembapan udara menjadi tinggi. Kadar air yang tinggi di udara dapat diserap madu sehingga kadar airnya meningkat. Berdasarkan topografinya, TNBTP Riau sebagai asal madu *A. mellifera* merupakan daerah perbukitan berlereng curam, kawasan berpenduduk berada pada ketinggian 60 – 72 mdpl dengan suhu udara relatif sekitar 27°C (Kwatrina & Mukhtar, 2006). Kota Prabumulih sebagai asal madu *A. dorsata* berada pada ketinggian 51-54 m dpl dengan suhu udara relatif sekitar 27°C (Pemerintah Kota Prabumulih, 2023) Perbedaan geografis ketinggian tempat di atas permukaan laut berpengaruh terhadap suhu udara lingkungannya. Semakin tinggi suatu daerah maka suhu akan semakin menurun (Mahani et al., 2022). Hal ini didukung oleh penelitian Ansyarif (2018) yang melaporkan kadar air madu *A. dorsata* asal Gowa (787 m dpl) sebesar 24,9% sedangkan kadar air madu *A. mellifera* asal Muaro Jambi (15-25 m dpl) sebesar 20,4% saja (Khabibi et al., 2022).

Nilai keasaman madu *A. mellifera* lebih tinggi dibandingkan dengan madu *A. dorsata*. Keasaman pada madu berkaitan dengan kadar air, sejalan dengan tingginya kadar air pada madu biasanya mengindikasikan bahwa madu telah mengalami fermentasi. Fermentasi pada madu disebabkan oleh aktivitas *yeast osmophilic* dari genus *Zygosaccharomyces*, yang tahan terhadap konsentrasi gula tinggi, sehingga dapat hidup dan berkembang dalam madu. Khamir di dalam madu akan mendegradasi gula, khususnya dekstrosa dan levulosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>, alkohol bereaksi dengan oksigen membentuk asam asetat, dan menyebabkan peningkatan rasa asam (Wulandari, 2017).

Secara alami keasaman pada madu disebabkan oleh eksistensi asam-asam bebas yang terkandung di dalamnya, antara lain asam amino yang dominan dalam bentuk prolin dan asam organik sebagian besar dalam bentuk asam glukonat. Beberapa asam organik lain dalam bentuk asam asetat, butirrat, format, laktat, oksalat, sitrat, malat, piroglutamat, maleat, piruvat, levulinat, suksinat dan lainnya (Adalina, 2017). Kandungan berbagai mineral seperti Ca, Na, dan K mempengaruhi keasaman pada madu (Evahelda, 2017).

Komponen utaman madu adalah karbohidrat dari golongan monosakarida yang terdiri atas glukosa dan fruktosa. Dalam pengujian mutu madu menurut SNI, kedua monosakarida tersebut diistilahkan sebagai gula pereduksi (Adalina, 2017). Hasil pemeriksaan menunjukkan

bahwa kadar gula pereduksi madu *A. dorsata* sebesar 46,8% lebih rendah dari ketentuan SNI 8664:2018 yaitu minimal 65% b/b, sedangkan kadar gula pereduksi madu *A. mellifera* sebesar 68%. Berbeda dengan studi yang dilakukan oleh Pribadi & Wiratmoko (2019) dengan hasil 69,41% - 95,37% untuk 12 sampel madu multiflora asal Riau. Lebih lanjut jika dibandingkan dengan hasil penelitian Khabibi et al., (2022) terhadap madu *A. mellifera* asal Muaro, Jambi hanya sebesar 17,76%. Kadar gula pereduksi pada penelitian Husna et al., (2020) terhadap madu monoflora dari lebah *A. mellifera* di pusat perlebahan Kota Batu Malang juga menunjukkan hasil di bawah 65%, yaitu 36,4 – 37,9%. Persentase gula reduksi yang lebih rendah dari 22% juga ditunjukkan juga oleh hasil studi Pribadi & Wiratmoko (2019) yang melakukan pemeriksaan terhadap madu lebah *A. dorsata* yaitu di bawah 65%. Lain halnya dengan kadar gula pereduksi hasil penelitian Minarti et al., (2016) pada madu *A. mellifera* yang dipanen pada hari ke-11, 14, dan 17 menunjukkan kadar gula pereduksi lebih tinggi pada madu yang panen di hari ke-17 sebesar 71, 67% dibandingkan kadar gula pereduksi yang panen di hari ke-11 dan hari ke-14 sebesar 69,46% dan 70,59%.

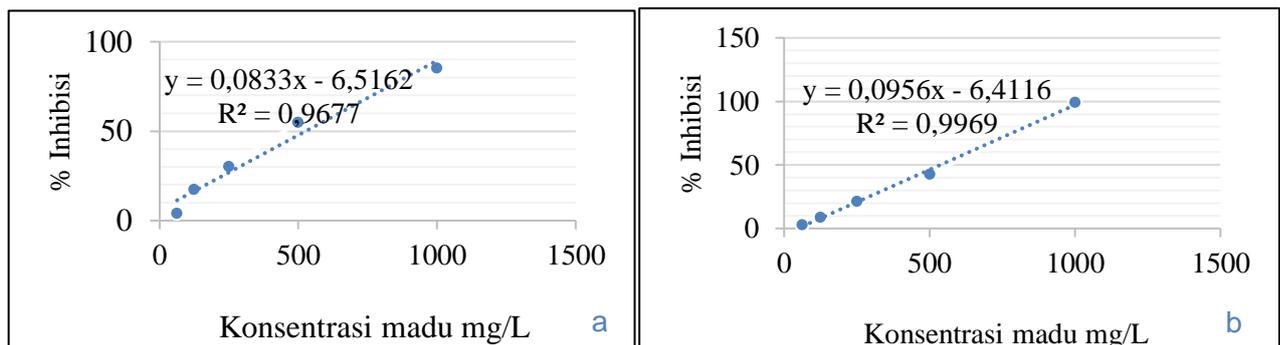
Proses akumulasi gula pada madu disebabkan karena nektar mengalami inverse sukrosa. Rendahnya kandungan gula pada madu dimungkinkan terjadi jika madu yang dipanen masih dalam keadaan belum matang (sel madu belum tertutup sempurna) sehingga proses inversi oleh enzim amilase yang memecah gula kompleks menjadi gula sederhana (reduksi) pada madu belum sempurna (Minarti et al., 2016). Rendahnya kadar gula juga bisa diakibatkan karena suhu dan lama penyimpanan madu, semakin tinggi suhu dan semakin lama masa penyimpanan turut menurunkan kualitas dan gula pada madu (Fatma et al., 2017).

Kedua sampel madu merupakan madu yang diambil dari jenis lebah dan lokasi yang berbeda. Sifat pada madu baik sifat kimia atau fisik madu dipengaruhi oleh banyak aspek lingkungan tempat sarang lebah berada. Kondisi geografis dan topografi, kondisi iklim dan cuaca, serta kelembapan dan suhu udara merupakan faktor abiotik lingkungan yang mempengaruhi kualitas madu. Faktor lingkungan akan menentukan jenis tumbuhan yang dapat tumbuh sesuai kondisi lingkungan tertentu untuk menyokong tumbuhan tersebut sehingga pola variasi vegetasi tanaman yang menjadi sumber nektar dan polen memiliki perbedaan kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif. Nutrisi dan senyawa bioktif pada tanaman dapat diteruskan ke nektar dan selanjutnya diolah lebah untuk menghasilkan madu yang dikumpulkan dari berbagai sumber bunga. Daya jelajah lebah menentukan aktivitas pencarian makanan dan keaneragaman tanaman sumber nektar (Jasmi, 2013). Beragam jenis tanaman dari wilayah yang sama atau jenis tanaman yang sama tetapi dari wilayah berbeda akan menghasilkan senyawa yang berbeda (Mahani et al., 2022). Berdasarkan hal tersebut maka mutu, kadungan

penyusun dan karakteristik madu seperti kadar air, keasaman, kadar gula dan sifat fisikokimia lainnya tidaklah sama (Gairola et al., 2013). Hal demikian menjadikan madu yang dihasilkan dari dua tempat dan dua jenis lebah yang berbeda masing-masing memiliki karakter yang berdeda dengan madu dari tempat lain.

### 3.3 Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode serapan radikal DPPH yang merupakan salah satu metode yang mudah dan umum digunakan. DPPH merupakan radikal sintetik yang stabil pada suhu kamar dan hanya larut dalam pelarut polar seperti metanol atau etanol (Gunawan et al., 2018). Diketahui bahwa % inhibisi berbanding lurus dengan konsentrasi. Artinya, semakin meningkat konsentrasi sampel maka aktivitas antioksidannya juga meningkat. Sesuai dengan penelitian Cahyaningrum et al., 2019 yang menyatakan bahwa persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Hasil % inhibisi menunjukkan kedua sampel madu memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mereduksi DPPH. Persentase inhibisi digunakan untuk membuat persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji sebagai nilai x dengan % inhibisi sebagai nilai y (Gambar 2).



**Gambar 2.** Kurva regresi aktivitas antioksidan madu *Apis mellifera* (a) dan *Apis dorsata* (b)

Berdasarkan persamaan yang diperoleh, maka dapat dihitung bahwa nilai IC<sub>50</sub> madu *A. mellifera* sebesar 678 mg/L (Gambar 2a) sedangkan madu *A. dorsata* sebesar 590 mg/L (Gambar 2b). Nilai *r square* kurva regresi madu *A. mellifera* dengan madu *A. dorsata* masing-masing mendekati 1 yaitu 0,9677 dan 0,9969. Hal ini menunjukkan bahwa persamaan regresi yang diperoleh linear dan terdapat hubungan antara % inhibisi dan konsentrasi madu. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa antioksidan madu *A. dorsata* hampir sama dengan madu *A. mellifera*. Semakin besar aktivitas antioksidan suatu bahan ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> yang kecil. Shehu et al. (2015) melaporkan bahwa madu tualang yang berasal dari Malaysia memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 460 mg/L. Aktivitas antioksidan hasil penelitian menunjukkan hasil yang lebih besar dari madu *A. mellifera* dari

pohon Akasia dengan nilai IC<sub>50</sub> 29.983 mg/L (Chua et al., 2013). Handayani (2022) juga melaporkan aktivitas antioksidan pada madu *A. mellifera* asal Riau dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 21.103 mg/L. Lain halnya dengan hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan oleh Nur'aini & Purwanto, (2021) terhadap madu *A. mellifera* memiliki IC<sub>50</sub> lebih tinggi, masing- masing asal Jambi 35,739 mg/L, Semarang 16,989 mg/L, Madiun 80,607, dan Bali 83,434 mg/L.

Faktor-faktor yang menentukan aktivitas antioksidan diantaranya adalah komposisi madu yang berbeda yang tergantung pada iklim, sumber nektar dan polen yang digunakan untuk produksi madu (Al-Mamary et al., 2002). Didukung oleh Suranto (2007) yang menyatakan bahwa tiap jenis madu memiliki efek antioksidan yang berbeda tergantung dari sumber nektarnya. Namun demikian antioksidan yang terkandung dalam madu mempunyai manfaat yang sama seperti antioksidan yang ada pada bahan alami lainnya yaitu mudah diserap dan ditransportasikan ke sel dan tidak bersifat toksik pada asupan yang tepat sehingga dapat meningkatkan aktioksidan alami pada plasma darah (Gheldof et al., 2003).

### 3.4 Total Fenolik dan Flavonoid

Nilai total fenolik (TPC) dan total flavonoid (TFC) yang terkandung pada madu *A. mellifera* dan *A. dorsata* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Total fenolik dan total flavonoid madu *Apis mellifera* dan *Apis dorsata*

Parameter Pengujian	Satuan	Lebah penghasil madu	
		<i>A. mellifera</i>	<i>A. dorsata</i>
Total fenolik / TPC	mgGAE/g	7,51	3,35
Total flavonoid / TFC	mgQE/g	0,90	0,42

Hasil penelitian tersebut lebih kecil dibandingkan Lachman et al., (2010) yang mengalisis kandungan total fenolik dan flavonoid madu multiflora asal Republik Ceko Eropa dengan nilai TPC berkisar 3,32 – 16,71 mgGAE/g, dan nilai TFC berkisar 0,53 – 1,23 4,43 mgQE/g. Chayati & Miladiyah (2014) melakukan studi terhadap TPC pada madu monofloral sawit lebah budidaya asal Palembang dengan TPC sebesar 4,43 mgGAE/g. Penelitian oleh Kaligis & Mokusuli, (2022) pada madu *A. dorsata* dari hutan Manembo Minahasa Selatan menyatakan nilai TFC sebesar 1,6 mgQE/g. Penelitian lain oleh Mahani et al., (2022) menunjukkan hasil TFC yang sangat tinggi terhadap madu *A. dorsata* dari Nusa Tenggara Timur dan Bangka Belitung berturut-turut sebesar 172,47 dan 294,86 mgQE/g. Lebih lanjut hasil pemeriksaan terhadap madu *A. mellifera* yang paling sering dikonsumsi di Malaysia menunjukkan nilai TPC dan TFC lebih kecil yaitu 1,96 mgGAE/g dan 0,06 mgQE/g (Chua et al., 2013).

Kandungan TPC dan TFC berkorelasi dengan aktifitas antioksidan (Ustadi et al., 2020; Goslinski et al., 2021). Turunan senyawa fenol dan flavonoid merupakan pengikat radikal peroksil yang sangat efisien disebabkan karakter utama pada struktur molekulnya yang mengandung cincin aromatis dengan gugus hidroksil. Kemampuan mengikat radikal bebas gugus fenol dengan mendonorkan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil dan akan mengalami penstabilan diri melalui efek resonansi. Senyawa fenol ini juga disebut sebagai inhibitor radikal (Asih et al., 2022). Kemampuan inilah yang mendasari senyawa fenol dan turunannya termasuk fenolik dan flavonoid memiliki banyak efek farmakologi secara *in vitro*. Namun demikian diperlukan uji alkan, alkohol, saponin, tanin dan aldehid untuk memntukan penyumbang terbesar aktivitas antioksidan (Rafi et al., 2012 ; Cahyati & Miladiyah, 2014).

#### 4. KESIMPULAN

Jenis lebah yang teridentifikasi dari TNBT Riau adalah *Apis mellifera* dan dari Prabumulih Sumatera Selatan adalah *Apis dorsata*. Hasil analisis sifat kimia menunjukkan kadar air, dan keasaman madu *Apis mellifera* dan *Apis dorsata* memenuhi SNI 8664:2018. Kadar air madu *Apis mellifera* dan *Apis dorsata* berturut-turut sebesar 21,68 % dan 20,28 %, keasaman 51,5 NaOH/Kg dan 30 mL NaOH/Kg sedangkan kadar gula reduksi 68,06 % dan 46,80 %. Aktivitas antioksidan madu *A. mellifera* dengan nilai IC<sub>50</sub> 678 mg/L sedangkan madu *A. dorsata* 590 mg/L. TPC dan TFC madu *Apis mellifera* berturu-turut sebesar 7,51 mg GAE/g dan 0,06 mg QE/g. madu *Apis dorsata* menunjukkan nilai TPC dan TFC lebih kecil yaitu 3,35 mg GAE/g dan 0,42 mg QE/g.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Pusat Penelitian dan Publikasi (Puslitpen) Lembaga Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta untuk dukungan finansial dan Siska Alicia Farma, M. Biomed untuk dukungan konsultasi dan analisis data.

#### REFERENSI

- Adalina, Y. (2017). Kualitas madu putih asal Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Posiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 3(2), 189–193. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m030204>
- Al-Mamary, M., Al-Meerri, A., & Al-Habori, M. (2002). An tioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22(9), 1041–1047. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(02\)00406-2](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(02)00406-2)

- Ansyarif, A. R. (2018). Kajian sifat fisikokimia madu hutan (*Apis dorsata*) dari daerah Maros, Pangkep dan Gowa Sulawesi Selatan. *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Arnanda, Q. P., Nuwarda, R. F., Studi, P., Farmasi, S., Farmasi, F., & Padjadjaran, U. (2019). Penggunaan radiofarmaka teknesium-99M dari Senyawa glutation dan senyawa flavonoid sebagai deteksi dini radikal bebas pemicu kanker. *Farmaka*, 17(2), 236–243.
- Asih, D. J., Warditiani, N. K., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review artikel: Aktivitas antioksidan ekstrak Amla (*Phyllanthus emblica/Embllica officinalis*). *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(6), 674–687.
- Badan Standarisasi Nasional. (2018). *Standar nasional Indonesia (SNI) 8664:2018 madu*. [www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)
- BadanPusatStatistik. (2020). *Statistik produksi kehutanan Indonesia 2020*. Badan Pusat Statistik. Jakarta. [www.bps.go.id](http://www.bps.go.id)
- Cahyaningrumm, P. L., Ayurweda, P. K., & Indonesia, U. H. (2019). Aktivitas antioksidan madu ternakan dan madu kelengkeng sebagai pengobatan alami. *E-Journal Widya Kesehatan*, 1(1), 1–6.
- Chayati, I., & Miladiyah, I. (2014). Kandungan komponen fenolat, kadar fenolat total, dan aktivitas antioksidan madu dari beberapa daerah di Jawa dan Sumatera. *Media Gizi Mikro Indonesia*, 6(1), 11–24.
- Chua, L. S., Rahaman, N. L. A., Adnan, N. A., & Eddie Tan, T. T. (2013). Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2013/313798>
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Engel, M. S. (2012). The honey bees of Indonesia (Hymenoptera: Apidae). *Treubia- a Journal on Zoology of the Indo - Australian Archipelago*, 39, 41–49.
- Evahelda. (2017). Sifat fisik dan kimia madu dari nektar pohon karet di Kabupaten Bangka Tengah. *Agritech*, 37(4), 363–368.
- Fahay, A. J., Rijal, S., Arsal, A. S. F., Kanang, I. L. D., & Dwimartyono, F. (2022). Fakumi medical journal. *Fakumi Medical Journal*, 2(10), 687–693. <https://fmj.fk.umi.ac.id/index.php/fmj>
- Fatma, I. I., Handayani, S., Widodo, S., & Suedy, A. (2017). Uji kualitas madu pada beberapa wilayah budidaya lebah madu d Kabupaten Pati. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(2), 58–65. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19538>
- Gairola, A., Tiwari, P., & Tiwari, J. K. (2013). Physico-chemical properties of Apis cerana-indica F. honey from Uttarkashi district of Uttarakhand, India. *Journal of Global Biosciences*, 2(1), 20–25. <http://mutagens.co.in/jgb.html>
- Gheldof, N., XH, W., & NJ, E. (2003). Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *Agric Food Chem*, 51(5), 1500–1505. <https://doi.org/10.1021/jf025897t>

- Goslinski, M., Nowak, D., & Szwengiel, A. (2021). Multidimensional comparative analysis of bioactive phenolic compounds of honeys of various origin. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 10(530), 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox10040530>
- Gunawan, R., Erwin, & Syafrizal. (2018). Uji fitokimia dan penentuan aktivitas antioksidan dari madu *Trigona incisa*. *Jurnal Atomik*, 3(1), 18–21.
- Hadisoesilo, S. (2001). Keanekaragaman spesies lebah madu asli Indonesia. *Biodiversitas*, 2(1), 123–128. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d020107>
- Handayani, T. H. (2022). Aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid madu *Apis mellifera* dari hutan akasia (*Accacia crassicarpa*) Riau, Indonesia dengan beberapa perlakuan pengeringan. *Jurnal Biologi Indonesia*, 18(2), 231–243. <https://doi.org/10.47349/jbi/18022022/231>
- Husna, I. S. H., Santoso, H., & Lisminingsih, R. D. (2020). Perbandingan kadar gula nektar dan kadar madu yang dihasilkan oleh Lebah (*Apis mellifera*) di Pusat Perlebahan Kota Batu. *Jurnal Ilmiah Sains Alami*, 2(2), 39–44.
- Jasmi. (2013). Tumbuhan yang dikunjungi lebah pekerja Apis (Hymenoptera: Apidae) di Sumatera Barat. *Jurnal Sainstek*, 5(1), 38–45. <https://doi.org/ISSN: 2085-8019>
- Juniarti, P. I. (2019). *Pengenalan koloni lebah madu*. (Artikel) Dinas Lingkungan Hidup dan Kehutanan Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. <https://dlhk.jogjaprov.go.id/pengenalan-koloni-lebah-madu>
- Kaligis, M. I. G., & Mokusuli, Y. S. (2022). Characteristics and flavonoid content of honey *Apis dorsata* Binghami from the Manembo forest of South Minahasa. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(4), 1420–1430. <https://doi.org/10.29303/jbt.v22i4.4247>
- Khabibi, J., Albayudi, & Ginting, D. J. (2022). Kualitas madu dari 3 spesies lebah penghasil madu. *Jurnal Sliva Tropika*, 6(1), 43–50.
- Kwatrina, R. T., & Mukhtar, A. S. (2006). Kriteria dan indikator penetapan zonasi Taman Nasional Bukittigapuluh. *Journal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 3(5), 585–606.
- Mahani, Savitri, S. R., & Subroto, E. (2022). Hubungan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan madu dari berbagai provinsi di Indonesia. *Jurnal Sains Dan Teknologi Pangan*, 7(4), 5255–5268.
- Micheler, C. D. (2007). *The bees of the world second edition*. The John Hopkins University Press.
- Minarti, S., Jaya, F., & Merlina, P. (2016). Pengaruh masa panen madu lebah pada area tanaman kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) terhadap jumlah produksi kadar air, viskositas dan kadar gula madu. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak*, 11(1), 46–51. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2016.011.01.1.5>
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., Khalil, I., & Gan, S. H. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys : a comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7(138), 1–12.
- Nidup, T., & Dorji, P. (2016). The honey bees (Hymnoptera: Apidae) of Bhutan with a key to the Apis species. *Bio Bulletin*, 2(2), 1–7. [www.biobulletin.com](http://www.biobulletin.com)

- Nur'aini, & Purwanto, H. (2021). Morphology, morphometrics, and molecular characteristics of *Apis cerana* and *Apis nigrocincta* from Central Sulawesi, Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 368–382. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2614>
- PemerintahKotaPrabumulih. (2023). *Selayang pandang geografis Kota Prabumulih*. (Artikel) Pemerintah Kota Prabumulih. <https://www.kotaprabumulih.go.id/geografis/>
- Pribadi, A., & Wiratmoko, M. E. (2019). Karakteristik madu lebah hutan (*Apis dorsata* Fabr.) dari berbagai bioregion di Riau. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 37(3), 185–200. <https://doi.org/10.20886/jphh.2019.37.3.185-200>
- Rafi, M., Widyastuti, N., Suradikusumah, E., & Darusman, L. K. (2012). Aktivitas antioksidan, kadar kandungan fenol dan flavonoid total dari enam tumbuhan obat Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(3), 159–165.
- Sasongko, D. D., & Junus, M. (2012). *Hubungan antara ketinggian tempat sisiran sarang dengan panjang, lebar, tebal, dan bobot sisiran sarang lebah hutan (Apis dorsata) di hutan harapan PT. Reki Jambi*. (Skripsi) Universitas Brawijaya Malang.
- Shehu, A., Adzim, M., Rohin, K., Aziz, A. A., & Ismail, S. (2015). Antibacterial activity and antioxidant capacity of Malaysian tualang honey. *International Journal of Science and Research*, 4(4), 1758–1762.
- Sjamsiah, Sikanna, R., Rifkah, A., & Saleh, A. (2018). Penentuan sifat fisikokimia madu hutan (*Apis dorsata*) Sulawesi Selatan. *Al-Kimia*, 6(2), 185–193. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v6i2.6668>
- Sudarmadji, S., Haryono, B., & Suhardi. (2010). *Analisa bahan makanan dan pertanian*. Liberty Yogyakarta.
- Suranto, A. (2007). *Khasiat dan manfaat madu herbal*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Triwanto, J., Herlina, K., & Muttaqin, T. (2021). Kualitas fisikokimia pada madu dari nektar bunga Randu (*Ceiba pentandra*) dan Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*). *Journal of Forest Science Avicennia*, 4(1), 102–113.
- Tyagita, N., Safitri, A. H., & Widyawati, E. (2021). *Penuaan dan stres oksidatif*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Ustadi, Radiati, L. E., & Thohari, I. (2020). Komponen bioaktif pada madu karet (*Hevea brasiliensis*) madu kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) dan madu randu (*Ceiba pentandra*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak*, 12(2), 97–102. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2017.012.02.6>
- Wilczyńska, A., & Ruszkowska, M. (2014). Water activity and colour parameters changes during storage of Linden and Buckwheat Honeys. *Gdynia Maritime*, 84(1), 84(1), 174–181.
- Wulandari, D. D. (2017). Analisa kualitas madu (keasaman, kadar air, dan kadar gula pereduksi) berdasarkan perbedaan suhu penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1), 2(1), 16–22. <https://doi.org/10.20473/jkr.v2i1.3768>