

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Aktivitas Antioksidan

Kadar antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH (*1,1-Difenil-1-pikrilhidrazin*) dengan parameter IC<sub>50</sub> (Lampiran 1). Pengukuran kadar antioksidan dengan metode ini didasarkan pada peredaman radikal bebas oleh antioksidan sehingga warna ungu dari radikal bebas semakin memudar. Semakin besar aktivitas antioksidan pada sampel maka warna ungu semakin memudar (warna kuning). IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%, yang berarti semakin kecil hasil yang diperoleh maka semakin baik kadar antioksidan tersebut. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan maka semakin tinggi aktivitas antioksidan didalam suatu bahan. Berikut ini disajikan nilai rata-rata aktivitas antioksidan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> Madu

No.	Perlakuan	Rataan ± SD (mg/mL)
1	P1 ( <i>Apis mellifera</i> )	32,6633 <sup>b</sup> ± 1,098
2	P2 ( <i>Apis cerana</i> )	13,5725 <sup>a</sup> ± 0,099
3	P3 ( <i>Trigona</i> sp.)	51,4667 <sup>c</sup> ± 5,185

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan (P<0,01).

Nilai IC<sub>50</sub> adalah nilai konsentrasi sampel untuk mengukur kemampuan aktivitas antioksidan suatu sampel untuk meredam

radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  sampel maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Izzati dkk., 2012). Kadar antioksidan tertinggi dihasilkan dari lebah *Apis cerana* (13,5725 mg/mL) atau berarti bahwa untuk mengurangi radikal bebas sebesar 50% diperlukan sebanyak 32,6633 mg/mL madu cerana, dan paling rendah dihasilkan lebah *Trigona* sp. (51,4667 mg/mL) atau untuk mengurangi radikal bebas sebesar 50% diperlukan sebanyak 51,4667 mg/mL madu trigona. Sedangkan *Apis mellifera* memiliki kadar antioksidan sebesar 32,6633 mg/mL. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan jenis lebah memberikan pengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap aktivitas antioksidan madu kaliandra yang dihasilkan (Lampiran 4). Hal ini membuktikan bahwa madu kaliandra dari tiga jenis lebah yang berbeda memiliki kadar antioksidan yang sangat berbeda.

Berdasarkan tabel diatas, aktivitas antioksidan madu kaliandra yang dihasilkan dari tiga jenis lebah yang berbeda tidak mengikuti urutan nilai fenolik dan flavonoid, dimana semakin tinggi kadar total fenolik dan kadar total flavonoid maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan dari lebah *Apis cerana*, akan tetapi kadar total fenolik didapatkan dari lebah *Trigona* sp. dan kadar flavonoid tertinggi didapatkan dari lebah *Apis mellifera*. Perbedaan nilai tersebut dapat dihasilkan karena didalam madu terdapat berbagai jenis antioksidan, sebagaimana yang dijelaskan oleh Khalil *et al.* (2010) bahwa madu mengandung berbagai senyawa antioksidn seperti flavonoid, komponen fenol, vitamin C, vitamin E dan senyawa lain yang dapat mengindikasikan kadar antioksidan didalam madu, semakin tinggi kandungan berbagai senyawa tersebut maka antioksidan madu akan semakin tinggi.

Kadar antioksidan madu kaliandra tertinggi pada jenis lebah *Apis cerana* dibandingkan dengan kedua jenis lebah yang lainnya. Berdasarkan hasil penelitian Zhao *et al.* (2017) menyatakan bahwa *Apis cerana* memiliki kadar antioksidan berkisar antara 87,5–136,2 mg/mL. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan. Bouhlali *et al.* (2016) melaporkan kadar antioksidan dari sebelas jenis madu monoflora (*Acacia*, *carob*, *Eucalyptus*, *harmal*, *jujube*, *lavender*, *orange*, *reseda*, *rosemary*, *spurge*, dan *thyme*) yang berasal dari Morocco yaitu 6,68 mg/mL, 11,96 mg/mL, 10,73 mg/mL, 8,52 mg/mL, 9,29 mg/mL, 11,84 mg/mL, 15,61 mg/mL, 12,53 mg/mL, 9,93 mg/mL, 7,91 mg/mL, dan 5,52 mg/mL. Shehu *et al.* (2013) melaporkan bahwa madu tualang yang berasal dari Malaysia memiliki kadar antioksidan sebesar 460 µg/mL. Pontis *et al.* (2014) juga melaporkan kadar antioksidan madu Brazil sebesar 4,9 mg/mL. Hal ini membuktikan bahwa jenis madu dari sumber nektar dan daerah asal yang berbeda memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda.

#### **4.2. Kadar Total Fenolik**

Fenolik merupakan gabungan dari beberapa senyawa seperti flavonoid, tanin dan alkaloid. Fenolik bisa ditemukan hampir disemua tanaman, dan juga bisa ditemukan didalam madu, buah-buahan dan teh merupakan sumber utama polifenol. Kandungan senyawa tersebut tergantung pada letak geografis, sumber nektar (sumber tanaman), dan juga warna madu yang lebih gelap mengandung senyawa fenolik dan flavonoid lebih tinggi dibandingkan madu yang berwarna terang (Saric *et al.*, 2012).

Kadar fenolik tertinggi dihasilkan oleh *Trigona* sp. (2,0300 mg GAE/g), dan paling rendah dihasilkan lebah *Apis mellifera*

(1,1870 mg GAE/g). Sedangkan *Apis cerana* memiliki kadar total fenolik sebesar 1,3510 mg GAE/g. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan jenis lebah memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar flavonoid madu kaliandra yang dihasilkan (Lampiran 5). Berikut ini disajikan nilai rata-rata kadar fenolik pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan Kadar Total Fenolik Madu

No.	Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (mg GAE/g)
1	P1 ( <i>Apis mellifera</i> )	1,1870 <sup>a</sup> $\pm$ 0,3220
2	P2 ( <i>Apis cerana</i> )	1,3510 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,4370
3	P3 ( <i>Trigona</i> sp.)	2,0300 <sup>b</sup> $\pm$ 0,5155

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ( $P < 0,05$ ).

Kadar total fenolik dari ketiga jenis lebah yang tertinggi adalah *Trigona* sp., *Apis cerana* dan *Apis mellifera* dengan nilai sebesar 2,0300 mg GAE/g, 1,3510 mg/g, dan 1,1870 mg GAE/g. Perbedaan tersebut diduga dikarenakan perbedaan warna dari sampel dimana madu *Trigona* sp. memiliki warna lebih gelap dibandingkan madu *Apis mellifera* dan *Apis cerana*, hal tersebut juga dijelaskan oleh Saric *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa warna madu yang lebih gelap mengandung senyawa fenolik lebih tinggi. Hasil penelitian tersebut lebih kecil dibandingkan yang dilaporkan oleh Lachman *et al.* (2010) pada madu multiflora dengan nilai sebesar 3,92-9,53 mg GAE/g, dan lebih besar dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Moniruzzaman *et al.* (2014) pada madu monoflora

Bangladesh dengan nilai rata-rata 199,20 mg GAE/kg, Pontis *et al.* (2014) pada 10 madu *Apis mellifera* dengan nilai sebesar 250-548 mg GAE/kg, Moniruzzaman (2013) pada madu akasia dengan nilai sebesar 129.16-341.67 mg GAE/kg. Berdasarkan hasil penelitian Zhao *et al.* (2017) menyatakan bahwa kadar total fenolik madu *Apis cerana* berkisar antara 332,55–502,13 mg GAE/kg. Alvarez-Suarez *et al.* (2018) melaporkan bahwa *Apis mellifera* memiliki kandungan total fenolik sebesar 54,30 mg GAE/100g madu. Ranneh *et al.* (2018) menyatakan bahwa *Trigona* sp. memiliki kadar total fenolik 228,09 mg GAE/kg pada lokasi penggembalaan di hutan Negara Kedah dan 235,28 mg GAE/kg pada lokasi penggembalaan di hutan Negara Johor Bahru. Alzahrani *et al.* (2012) juga melaporkan total kadar fenolik madu manuka, acacia, lavender, dan *wild carrot* dari geografis yang berbeda berturut-turut yaitu 899,09 mg GAE/kg, 627,56 mg GAE/kg, 111,42 mg GAE/kg, dan 503,09 mg GAE/kg. Hal ini juga membuktikan bahwa jenis madu dari sumber nektar dan daerah asal yang berbeda memiliki kadar total fenolik yang berbeda.

### **4.3. Kadar Total Flavonoid**

Flavonoid merupakan turunan dari senyawa fenol, yang berperan sebagai antibakteri, sehingga akan didapatkan kadar flavonoid madu akan selalu lebih kecil dari kadar phenolik madu. Pada umumnya flavonoid didalam makanan bertanggung jawab terhadap warna, rasa, dan mencegah oksidasi. Kadar flavonoid didalam madu dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya letak geografis penggembalaan lebah dan jenis lebah yang menghasilkan madu, serta warna madu yang lebih gelap mengandung senyawa fenolik dan flavonoid lebih tinggi

dibandingkan madu yang berwarna terang (Saric *et al.*, 2012). Berikut ini disajikan nilai rata-rata kadar flavonoid pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan Kadar Total Flavonoid Madu

No.	Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (mg QE/g)
1	P1 ( <i>Apis mellifera</i> )	0,2664 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0102
2	P2 ( <i>Apis cerana</i> )	0,1176 <sup>a</sup> $\pm$ 0,0193
3	P3 ( <i>Trigona</i> sp.)	0,2491 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0144

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan ( $P < 0,01$ ).

Kadar total flavonoid tertinggi madu kaliandra yang dihasilkan dari tiga jenis lebah yang berbeda berturut-turut adalah *Apis mellifera*, *Trigona* sp. dan *Apis cerana*, dengan nilai sebesar 0,2664 mg QE/g, 0,2491 mg QE/g dan 0,1176 mg QE/g. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan jenis lebah memberikan pengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar total flavonoid madu kaliandra yang dihasilkan (Lampiran 6). Kadar total flavonoid terbesar pada madu jenis *Apis mellifera* yaitu 0,2664 mg QE/g. Alvarez-Suarez *et al.* (2018) melaporkan bahwa *Apis mellifera* memiliki total kadar flavonoid 2,68 mg QE/100g madu, yang berarti memiliki hasil lebih rendah dari penelitian yang dilakukan. Ranneh *et al.* (2018) juga melaporkan bahwa *Trigona* sp. memiliki kadar total flavonoid pengembalaan hutan Negara Kedah adalah 97,88 mg QE/kg dan 101,5 mg QE/kg pada lokasi pengembalaan di hutan Negara Johor Bahru. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan. Saric *et al.* (2012)

melaporkan bahwa kadar total flavonoid dari madu *acacia* dan madu multiflora selama penyimpanan bulan September-Oktober 2010 berturut-turut adalah 8,30 mg QE/100 g dan 14,26 mg QE/100g. Boulanouar *et al.* (2017) menyatakan bahwa kadar total flavonoid dari madu *Zizyphys lotus* dan *Peganum harmala* yang berasal dari Algeria Selatan yaitu 38 mg QE/100 g dan 86 mg QE/100 g. Chua *et al.* (2013) menyatakan bahwa total flavonoid yang dihasilkan dari madu tualang, gelam dan acacia berturut-turut sebesar 18,511 mg QE/100g, 32,866 mg QE/100g dan 30,741 mg QE/100g. Hal ini membuktikan bahwa jenis madu dari sumber nektar dan daerah asal yang berbeda memiliki kadar total flavonoid yang berbeda.