

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Aktivitas Antioksidan**

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh (Rohmatussolihat, 2009). Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Hernani dan Rahardjo, 2005). Antioksidan biasanya diukur menggunakan metode DPPH, pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ini didasarkan pada peredaman radikal bebas oleh antioksidan sehingga warna ungu dari radikal DPPH menjadi memudar. Semakin besar aktivitas antioksidan pada suatu bahan, maka warna ungu dari radikal DPPH semakin memudar (warna kuning). Nilai  $IC_{50}$  dihitung berdasarkan persen peredaman terhadap radikal DPPH. Masing-masing konsentrasi yang diuji akan didapatkan persentase peredamannya, kemudian hasil tersebut diplotkan kedalam kurva sehingga akan didapatkan suatu persamaan  $y = a + bx$ . Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan perhitungan regresi linear dimana  $x$  adalah konsentrasi sampel dan  $y$  adalah persentase peredaman. Nilai  $IC_{50}$  diapatkan dari nilai  $x$  setelah mengganti nilai  $y = 50$  (Molyneux, 2004). Hasil penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan yang terdapat dalam *bee bread* kaliandra dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan aktivitas antioksidan *bee bread* IC<sub>50</sub>

Perlakuan	Rataan ± SD (mg/mL)
P <sub>1</sub> ( <i>A. mellifera</i> )	15,84 <sup>c</sup> ±0,62
P <sub>3</sub> ( <i>Trigona sp.</i> )	14,44 <sup>b</sup> ±0,25
P <sub>2</sub> ( <i>A. cerana</i> )	5,07 <sup>a</sup> ±0,54

Keterangan : <sup>a-c</sup>Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05) pada aktivitas antioksidan.

Hasil dari penelitian mengenai aktivitas aktioksidan yang terkandung dalam *bee bread* kaliandra menunjukkan bahwa nilai rataan IC<sub>50</sub> metode DPPH tertinggi adalah P<sub>1</sub>, diikuti P<sub>3</sub> dan paling rendah P<sub>2</sub> (Lampiran 4). Namun, aktivitas antioksidan yang lebih tinggi justru pada P<sub>2</sub> dengan nilai 5,07 mg/mL karena pada perlakuan ini hanya membutuhkan lebih efisien dan sedikit jumlah *bee bread* untuk menghambat reaksi oksidatif. Hal tersebut telah dijelaskan oleh Molyneux (2004) bahwa Nilai IC<sub>50</sub> adalah nilai konsentrasi sampel untuk mengukur kemampuan aktivitas antioksidan suatu sampel untuk meredam radikal bebas sebesar 50%, semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ivanisova *et al.* (2015) bahwa aktivitas antioksidan *bee bread* berkisar antara 14,62 sampai 15,78 mg TEAC/g. Menurut Zukowska *et al.* (2013) bahwa aktivitas antioksidan *bee bread* yang diambil di daerah Polandia berkisar antara 0,56-1,11 mmol/L dengan tes Randox pada Cintra 3030, sedangkan Zuluaga *et al.* (2015) melaporkan bahwa *bee bread* Kolombia memiliki aktivitas antioksidasi antara 46,1 sampai 76,3 µmol Trolox/g yang diukur menggunakan metode ABTS. Bila mengacu pada Molyneux

(2004) yang mengatakan bahwa DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil dengan warna ungu yang cukup kuat dan dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari antioksidan suatu bahan sehingga membentuk DPPH tereduksi. Mekanisme terjadinya reaksi DPPH ini berlangsung melalui transfer elektron. DPPH akan mengambil atom hidrogen yang terdapat dalam suatu senyawa, misalnya senyawa fenolik yang terdapat pada sampel sehingga warna ungu DPPH akan memudar. Selain itu, suatu zat dapat berpotensi sebagai antioksidan bila nilai  $IC_{50}$  nya kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$  atau 1  $\text{mg/mL}$ , maka ketiga *bee bread* kaliandra yang diuji kurang berpotensi sebagai antioksidan alami. Adanya aktivitas antioksidan dalam *bee bread* disebabkan oleh adanya proses fermentasi campuran air liur lebah, serbuk sari tanaman dan nektar yang akan terus meningkat dalam jangka waktu fermentasi yang lebih lama. Pernyataan tersebut juga disampaikan oleh Sutedjo dan Fithri (2015) bahwa lamanya proses fermentasi atau penyimpanan suatu zat dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan, yang mana semakin lama penyimpanan maka aktivitas antioksidan akan meningkat.

Hasil analisa ragam dari perhitungan aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas antioksidan dalam *bee bread* lebah madu. Perlakuan  $P_2$  *A. cerana* menunjukkan nilai aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Namun demikian, semua sampel *bee bread* yang telah diuji menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Atas dasar temuan di atas, *bee bread* diketahui sebagai sumber penting antioksidan untuk industri makanan dan farmasi. Perbedaannya diamati antara aktivitas antioksidan yang diuji dengan antioksidan yang terdapat di

alam tergantung daerah pemanenan sampel *bee bread* yang dikumpulkan (Ivanisova *et al.*, 2015).

## 4.2 Kadar Fenolik

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik (Vermeris and Nicholson, 2006). Senyawa fenolik merupakan fitokimia yang ditemukan pada semua jenis tumbuhan yang terdiri dari fenol sederhana, asam sinamat, kumarin, tannin, lignin dan flavonoid (Khoddami, Wilkes and Robberts, 2013). Kandungan total fenolik dalam suatu bahan biasanya di uji menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang hasilnya diplotkan terhadap kurva asam gallat dengan satuan mg GAE/g. Reaksi antara reagen Folin-Ciocalteu dan kadar fenolik akan menghasilkan warna biru kompleks yang menyerap radiasi dan memungkinkan kuantifikasi. Menurut Dungira, Katja dan Kamu (2012), penggunaan asam galat sebagai standar dikarenakan senyawa ini sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen folin-ciocalteu, sehingga reaksi yang terjadi lebih sensitif dan intensif. Hasil penelitian mengenai uji kadar fenolik yang terdapat dalam *bee bread* kaliandra dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan kadar fenolik *bee bread*

Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (mg GAE/g)
P <sub>2</sub> ( <i>A. cerana</i> )	6,50 <sup>b</sup> $\pm$ 1,41
P <sub>1</sub> ( <i>A. mellifera</i> )	5,49 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,65
P <sub>3</sub> ( <i>Trigona sp.</i> )	4,01 <sup>a</sup> $\pm$ 0,68

Keterangan : <sup>a-b</sup>Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) pada kadar fenolik.

Hasil dari penelitian mengenai kadar fenolik yang terkandung dalam *bee bread* kaliandra menunjukkan bahwa nilai rata-ran kadar fenolik metode Folin-Ciocalteu tertinggi adalah P<sub>2</sub>, diikuti P<sub>1</sub> dan paling rendah P<sub>3</sub> (Lampiran 5). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ivanisova *et al.* (2015), kadar fenolik dalam *bee bread* berkisar antara 12,36 – 25,4 mg GAE/g. Berbeda dengan penelitian Zuluaga *et al.* (2015), total kadar fenolik *bee bread* di Kolombia berkisar antara 2,1 sampai 13,7 mg GAE/g. Sedangkan penelitian Zukowska *et al.* (2013), kadar fenolik *bee bread* daerah Polandia berkisar antara 33,43-36,52 mg GAE/g. Hasil penelitian yang diperoleh lebih kecil dari pada penelitian terdahulu, hal tersebut diduga disebabkan *bee bread* mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan selain senyawa fenolik. Salah satu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan selain senyawa fenolik adalah senyawa karotenoid (Ndhlala *et al.*, 2010).

Hasil dari analisis ragam mengenai kadar fenolik menunjukkan bahwa perlakuan *bee bread* memberikan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar fenolik. Hal tersebut diduga disebabkan *bee bread* mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan selain senyawa fenolik. Salah satu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan selain senyawa fenolik adalah senyawa karotenoid (Ndhlala *et al.*, 2010). Menurut Dungira, Katja dan Kamu (2012), tingginya kandungan fenol yang terekstraksi dikarenakan pengaruh pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pelarut seperti metanol dan etanol merupakan pelarut yang sangat luas digunakan dan efektif untuk ekstraksi komponen-komponen fenolik dari bahan alam. Menurut Redha dan Rusiardy (2013), senyawa fenolik mencakup banyak

sub-kelompok yang berbeda (Flavonoid, asam fenolik, stilbene, lignin, tannin, polifenol teroksidasi) dan menampilkan keragaman struktur yang besar sehingga komponen-komponen yang terelusi selama proses fraksinasi sangat dipengaruhi oleh polaritas sistem pelarut organik yang digunakan. Menurut Bonvehi et al. (2001) *bee pollen* lebah kaya akan *gallic acid*, *vanillic*, *protocatechuic*, *asam p-coumaric*, *hesperidin*, *rutin*, *luteolin*, *apigenin*, *kaempferol*, *quercetin* dan *isorhamnetin*. Kadar fenolik dalam *bee bread* biasanya tidak jauh berbeda dengan kadar fenolik yang terdapat di dalam *bee pollen* karena pada dasarnya aktivitas antioksidan yang terdapat dalam *bee bread* ditentukan oleh bunga yang menjadi pakan lebah.

#### **4.3 Kadar Flavonoid**

Senyawa flavonoid adalah senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid. Beberapa penyakit seperti arterosklerosis, kanker, diabetes, parkinson, alzheimer, dan penurunan kekebalan tubuh telah diketahui dipengaruhi oleh radikal bebas dalam tubuh manusia. Flavonoid menjadi perhatian karena peranannya bersifat obat dalam pencegahan kanker dan penyakit kardiovaskular (Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi, 2013). Menurut Pontis et al. (2014), kadar flavonoid diperoleh dengan metode menggunakan aluminium klorida yang menghasilkan warna kuning pada reaksi pembentukan antara ion aluminium,

Al (III) serta gugus karbonil dan hidroksil pada flavon dan flavonol. Hasil penelitian mengenai uji kadar flavonoid dalam *bee bread* kaliandra seperti yang terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan kadar flavonoid *bee bread*

Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (mg QE/g)
P <sub>2</sub> ( <i>A. cerana</i> )	1,93 <sup>b</sup> $\pm$ 0,11
P <sub>3</sub> ( <i>Trigona sp.</i> )	0,73 <sup>a</sup> $\pm$ 0,05
P <sub>1</sub> ( <i>A. mellifera</i> )	0,70 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02

Keterangan : <sup>a-b</sup>)Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05) pada kadar flavonoid.

Hasil dari penelitian mengenai kadar flavonoid yang terkandung dalam *bee bread* kaliandra menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar flavonoid menggunakan pereaksi aluminium klorida tertinggi adalah P<sub>2</sub>, diikuti P<sub>3</sub> dan paling rendah P<sub>1</sub> (Lampiran 6). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ivanisova *et al.* (2015) bahwa total kandungan flavonoid dalam *bee bread* berkisar antara 0,01356 mg QE/g sampai 0,01824 mg QE/g. Berbeda dengan penelitian Zuluaga *et al.* (2015), total kadar flavonoid *bee bread* di Kolombia berkisar antara 1,9 sampai 4,5 mg QE/g. Menurut Sobral *et al.* (2017), total flavonoid *bee bread* Polandia berkisar 2,5-100  $\mu$ g/mL. Tavididishvili *et al.* (2014), total flavonoid *bee bread* di Georgia Barat berkisar 6,17-5,03 g/kg dengan metode HPLC. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05) pada kadar flavonoid *bee bread* kaliandra. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ivanisova *et al.* (2015) bahwa total kandungan flavonoid dalam *bee bread* berkisar antara 0,01356 mg QE/g sampai

0,01824 mg QE/g. Perbedaan kadar flavonoid masing-masing *bee bread* kaliandra sangat dipengaruhi oleh karakteristik fisik seperti warna, rasa dan aroma. Berdasarkan pernyataan Estevinho, dkk (2008) bahwa seperti halnya madu, flavonoid pada *bee bread* dianggap penting karena kontribusinya terhadap warna *bee bread*, rasa dan aroma dan juga karena efek menguntungkan terhadap kesehatan. Hal ini juga didukung oleh pendapat DeGrandi-Hoffman *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa flavonoid adalah komponen sekunder yang paling penting dalam *bee bread* karena dapat mempengaruhi tampilan secara visual seperti warna (pigmentasi) dan rasa (*astringency* dan kepahitan). Komposisi flavonoid dan kapasitas antioksidan *bee bread* tergantung pada faktor sumber bunga yang dominan yang digunakan untuk mengumpulkan *bee bread* dan tergantung musim dan lingkungan. Menurut Pontis *et al.* (2014) ada korelasi antara warna, flavones, flavonol, kandungan senyawa fenolik dan kapasitas antioksidan *bee bread* yang diuji. Sampel *bee bread* yang berwarna gelap memiliki kandungan senyawa fenolik, flavon, dan flavonol yang lebih tinggi serta adanya peningkatan aktivitas antioksidan.