

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Fisikokimia

5.1.1. Intensitas Warna

Warna merupakan salah satu karakteristik penting pada madu. Warna madu sering dikaitkan dengan kualitas dan mutu madu. Umumnya warna madu yang terang lebih disukai daripada madu yang berwarna gelap (Suranto, 2007). Hal ini karena madu dengan warna gelap mempunyai flavor yang kuat atau tajam, sedangkan madu dengan warna terang mempunyai flavor yang lebih enak. Selain itu, warna pada madu dapat menunjukkan sumber asal nektar dan kualitas madu serta dapat menunjukkan indikasi adanya perubahan kimia pada madu, seperti perubahan warna madu menjadi lebih gelap saat disimpan dalam waktu yang lama dalam suhu ruang atau karena pengaruh pemanasan.

Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu yang baru dipanen dan belum dilakukan pemanasan, sehingga memungkinkan belum terjadi perubahan warna madu. Indeks warna pada madu karet, madu randu dan madu kaliandra yaitu amber kemerahan dengan tingkat kecerahan yang berbeda, sedangkan madu kaliandra berwarna amber dengan semburat kehijauan seperti yang terdapat pada Lampiran 13. Karakteristik warna madu yang lebih spesifik disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik warna pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Parameter Warna		
	L*	a*	b*
Madu Kaliandra	33,55 ± 0,1 ^a	-2,55 ± 0,06 ^a	8,6 ± 0,08 ^a
Madu Karet	27,15 ± 0,39 ^b	7,6 ± 0,88 ^b	3,93 ± 0,63 ^b
Madu Randu	29,83 ± 0,39 ^c	5,07 ± 0,21 ^c	7,58 ± 0,46 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Hasil analisis ragam dan uji DMRT (Tabel 5) menunjukkan bahwa ada perbedaan diantara jenis madu yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada warna madu. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing madu dari sumber nektar yang berbeda memiliki warna yang berbeda. Menurut Baltrusaityte, Venskutonis and Ceksteryte (2007), warna madu terkait dengan kandungan mineral, serbuk sari dan komponen fenolik. Kuntadi (2002) juga menyatakan bahwa warna madu dipengaruhi oleh kandungan mineral-mineral, jenis tanaman asal sumber nektar, cara pengolahan madu seperti ekstraksi madu dan pemanasan. Perbedaan warna pada masing-masing madu ini menjadi karakteristik fisik pada masing-masing jenis madu.

Intensitas kecerahan (L^*) paling tertinggi diantara tiga jenis madu adalah madu kaliandra. Hal ini berarti madu kaliandra memiliki warna lebih cerah daripada yang lainnya, sedangkan madu karet memiliki intensitas kecerahan paling rendah atau dengan kata lain memiliki warna lebih gelap dibanding madu randu dan madu kaliandra. Adapun intensitas kecerahan madu randu berada ditengah-tengah antara madu karet dan madu kaliandra. Secara berurutan intensitas kecerahan paling tinggi adalah madu kaliandra > madu randu > madu karet. Jadi madu karet memiliki warna paling gelap, sedangkan madu kaliandra memiliki warna paling terang. Moniruzzaman *et al.* (2013) melaporkan bahwa intensitas gelap terangnya warna madu memiliki korelasi yang kuat dengan total senyawa fenolik sebesar $r = 0,837$, warna dengan total flavonoid $r = 0,735$, dan warna dengan aktivitas antioksidan $r = 0,938$. Pontis *et al.*, (2014) juga menemukan nilai $r = 0,967$ untuk korelasi warna dengan total fenolik, dan $r = 0,924$ untuk korelasi warna dengan kadar total flavonoid. Hal ini memungkinkan juga terjadi korelasi antara intensitas kecerahan (L^*) dengan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan pada madu karet, madu randu, dan madu kaliandra.

Intensitas warna merah (a^*) yang paling tinggi adalah madu karet diikuti oleh madu randu. Sedangkan madu kaliandra memiliki kecenderungan warna hijau (a^-) dimana warna hijau lebih dominan daripada warna merah yang terlihat dari nilai a^* negatif. Intensitas warna merah menunjukkan bahwa semakin besar intensitas warna merah madu maka semakin gelap warnanya, sebaliknya semakin rendah intensitas warna merahnya maka semakin terang warnanya. Hal ini terlihat pada tabel diatas dimana madu karet memiliki intensitas warna merah paling besar sehingga warnanya paling gelap, sedangkan madu kaliandra memiliki kecendrungan warna hijau daripada warna merah sehingga warnanya paling terang.

Intensitas kecerahan diikuti dengan intensitas warna kuning (b^*), semakin tinggi intensitas warna kuning maka warna madu semakin terang. Hal ini terlihat dari nilai intensitas warna kuning pada masing-masing madu. Madu kaliandra memiliki intensitas warna kuning paling tinggi dan memiliki warna paling terang, sedangkan madu karet dengan warna paling gelap memiliki warna kuning paling rendah. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kuning warna madu maka warnanya semakin terang, sebaliknya semakin merah warna madu semakin gelap warnanya. Chayati (2008) juga melaporkan intensitas warna madu kaliandra dan madu randu, dimana madu kaliandra memiliki intensitas warna kuning lebih besar (40,33) dan warna merah lebih kecil (2,23) dibandingkan madu randu dengan warna kuning (10,00) dan warna merah (2,67). Selain itu, hal tersebut juga menunjukkan bahwa madu dengan sumber nektar bunga yang berbeda memiliki intensitas warna yang berbeda pula.

5.1.2. pH Madu

Madu adalah bahan pangan yang mempunyai pH yang rendah. Tingkat pH yang rendah ini dapat mencegah pertumbuhan bermacam bakteri

pembusuk pada madu, sehingga dengan pH yang rendah ini madu memiliki daya simpan yang tinggi. Rerata pH pada tiga jenis madu ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata pH pada tiga jenis madu

Jenis Madu	pH
Madu Kaliandra	4,23 ± 0,07 ^a
Madu Karet	3,72 ± 0,03 ^b
Madu Randu	3,26 ± 0,02 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Hasil analisis ragam dan uji lanjut DMRT 1% (Tabel 6) menunjukkan bahwa pH pada tiga jenis madu memiliki perbedaan yang nyata. Madu randu mempunyai pH paling rendah yaitu 3,26 sedangkan madu kaliandra pH nya paling tinggi yaitu 4,23. Chayati (2008) melaporkan pH madu kaliandra, madu kelengkeng, madu rambutan, dan madu randu dimana nilainya berturut-turut adalah 4,37, 4,48, 4,21, 3,87. Hal ini membuktikan bahwa pH masing-masing madu memiliki perbedaan diantara masing sumber nektar.

pH madu dipengaruhi oleh kandungan asam organik dan anorganik. Asam organik yang dominan dalam madu adalah asam glukonat yang merupakan hasil perombakan glukosa oleh enzim. Asam organik lainnya yang terdapat dalam madu adalah asam asetat, butirat, format, glukonat, laktat, malat, maleat, oksalat, piroglutamat, sitrat, suksinat, gli kolat, α -ketoglutaral, piruvat, 3-fosfoglisarat, β -gliserofaofat dan glukose-6-fosfat (Suarez *et al.*, 2010). Menurut Sihombing (2007) keasaman madu ditentukan juga oleh disosiasi ion hidrogen dalam larutan air, namun sebagian besar juga oleh kandungan berbagai mineral (antara lain Ca, Na, K) dan madu yang kaya akan mineral pH-nya akan tinggi.

Menurut Saputra (2012) kandungan asam dalam madu yaitu 0,5% dari total padatannya. Tingkat keasaman madu ini memiliki peranan penting dalam menentuka rasa madu. Rasa manis pada madu kerena kandungan gulanya

sangat tinggi diseimbangkan oleh rasa asam, begitu pula sebaliknya nilai asam madu yang tinggi diseimbangkan oleh tingkat manis yang tinggi pula sehingga menghasilkan cita rasa yang seimbang antara manis dan asam. Suranto (2007) menyatakan bahwa pH madu yang rendah ternyata bisa meningkatkan pH lambung. Hal ini karena madu mengandung mineral yang bersifat alkali dan berfungsi sebagai *buffer*. Menurut Saputra (2012) tingkat keasamaan dari madu ini juga dapat bermanfaat dalam ketahanan dan kestabilan madu terhadap mikroorganisme.

5.1.3. Kadar Air

Kadar air merupakan faktor penentu kualitas madu, semakin tinggi kadar air madu maka kualitasnya akan semakin rendah. Madu yang bagus adalah madu yang memiliki kadar air yang rendah. Hal ini berhubungan dengan daya simpan madu dimana kadar air rendah akan mencegah pertumbuhan mikroorganisme didalam madu. Sebaliknya jika kadar air lebih tinggi dapat menyebabkan fermentasi madu yang tidak diinginkan selama penyimpanan. Hal ini diperkuat oleh Moniruzzaman *et al.* (2013) bahwa madu dengan kadar air rendah akan membuat madu memiliki daya simpan lebih lama karena terhindar dari pertumbuhan mikroorganisme perusak dalam madu. Kadar air madu kaliandra, madu karet dan madu randu disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata kadar air tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Air(%)
Madu Kaliandra	20,00 ± 0,16 ^a
Madu Karet	22,60 ± 0,08 ^b
Madu Randu	25,40 ± 0,08 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Tabel 7 menunjukkan bahwa kadar air pada tiga jenis madu memiliki perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$). Kadar air dari sampel yang diteliti berkisar antara 20,00% sampai 22,40% dimana madu karet memiliki kadar air paling

rendah (20,20%), sedangkan paling tinggi adalah madu randu (22,40%). Perbedaan ini disebabkan oleh umur panen pada masing-masing madu. Madu kaliandra dipanen dengan umur panen 17 hari, madu karet dipanen dengan umur panen 12 hari, dan madu randu dipanen dengan umur panen 7 hari. Oleh sebab itulah madu kaliandra memiliki kadar air paling rendah dibandingkan madu karet dan madu randu. Minarti, Jaya dan Merlina (2016) juga melaporkan kadar air madu kaliandra yang dipanen dengan umur panen yang berbeda yaitu umur 11 hari, 14 hari, dan 17 hari dimana masing-masing nilainya secara berturut-turut adalah 22,02%, 21,00%, dan 19,48%.

Madu kaliandra dan madu karet memiliki kadar air dibawah 22% yang merupakan batas maksimum untuk kadar air madu sesuai dengan peraturan SNI 3545:2013. Adapun madu karet dan madu randu memiliki kadar air diatas 22%, hal ini bisa menyebabkan madu karet dan madu randu akan lebih mudah terfermentasi selama penyimpanan oleh khamir dari jenis *Zygosaccharomyces* yang berakibat pada pembentukan etil alkohol dan karbon dioksida. Chayati (2008) melaporkan kadar air madu kaliandra dari daerah Kulon Progo, madu randu dari Pati, madu rambutan dari Magelang, dan madu rambutan dari daerah Ambarawa dimana kadar air masing-masing madu secara berturut-turut adalah 26,25%, 20,77, 18,95, dan 22,67. Menurut Buba *et al.* (2013) kadar air madu sangat beragam, tergantung pada kadar air sumber nektar dan iklim. Bila kadar air nektar tinggi, kadar air madu yang dihasilkan cenderung tinggi pula.

Kadar air madu juga tergantung dari kelembaban udara daerah sekitar sarang madu. Hal ini karena madu mempunyai sifat higroskopis yang dapat menyerap air disekitarnya. Umumnyakelembaban nisbi (RH) daerah tropis lebih tinggi daripada RHdaerah subtropis, sehingga kadar air madu di daerah tropis biasanya juga lebih tinggi. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Fatriani, Arfa Agustina Rezekiah, dan Adistina Fitriani (2014) bahwa ingginya kadar air

madu Indonesia disebabkan oleh tingkat kelembaban kawasan tropis yang sangat tinggi (sekitar 60% s.d. 80%), sedangkan daerah kawasan subtropis tingkat kelembaban udaranya sangat rendah (di bawah 50%). Hal ini dapat dilihat jika dibandingkan dengan kadar air madu dari daerah yang mempunyai kadar air rendah, misalnya kadar air madu Portugis yaitu berkisar antara 15,9-17,2% (Gomes, Dias, Moreira, Rodrigues, *and* Estevinho, 2010), kadar air madu maroko berkisar antara 14,3-20,2% (Chakir, Romane, Marcazzan, *and* Ferrazzi, 2011), dan kadar air madu Australia berkisar antara 10,6-17,8% (Ajlouni *and* Sujiranyokul (2010).

Kenaikan suhu ruang juga berpengaruh terhadap kadar air madu. Darmawan (2012) melaporkan bahwa suhu penurunan kadar air lebih cepat pada 25°C dibandingkan suhu 30°C dengan tingkat kelembaban yang sama (40%). Suhulingkungan sebesar 25°C mampumenurunkan kadar air madu sebesar 0,82% per hari dibandingkan pada suhu 30°C yang hanya mampu menurunkan kadar air per hari 0,42%. Hal ini juga diperkuat oleh Harjo, Radiati dan Rosyidi (2014), dan Minarti, Jaya dan Merlina (2016) bahwa suhu ruang memengaruhi tinggi rendahnya kadar air madu.

5.1.4. Kadar Total Gula

Madu merupakan bahan makanan dan minuman sumber energi dimana komposisi madu dalam jumlah besar adalah karbohidrat utamanya fruktosa, glukosa dan 25 jenis oligosakarida lainnya (Bogdanov *et al.*, 2008). Kadar gula madu terdiri dari gula pereduksi dan gula non pereduksi. Gula pereduksi adalah gula karbohidrat seperti fruktosa, glukosa, maltose dan dekstrin, sedangkan gula nonpereduksi adalah sukrosa. Kadar total gula pada madu kaliandra, madu karet, dan madu randu disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata total gula tiga jenis madu

Jenis Madu	Total Gula(%)
Madu Kaliandra	79,68 ± 0,64 ^a
Madu Karet	73,18 ± 1,05 ^b
Madu Randu	76,95 ± 0,39 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Kadar total gula pada madu kaliandra, madu karet, dan madu randu adalah berkisar antara 73,18-79,68% dengan tingkat perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$). Madu kaliandra memiliki total gula paling tinggi (79,68%) daripada madu karet (73,18%) dan madu randu (76,95%). Perbedaan ini berhubungan dengan jenis nektar bunga yang merupakan faktor utama yang mempengaruhi kadar gula pada masing-masing madu. Silva, Gauche, Gonzaga, Costa and Fett (2015) menyatakan bahwa komposisi gula madu dipengaruhi oleh jenis bunga yang digunakan oleh lebah, serta daerah dan kondisi iklim.

Menurut Sihombing (2007) jenis gula yang dominan dalam hampir semua madu adalah fruktosa dan glukosa mencakup 85-90% dari karbohidrat yang terdapat dalam madu dan hanya sebagian kecil oligosakarida dan polisakarida (Sihombing, 2007). Bogdanov *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa kandungan gula total madu adalah 82,4% yang terdiri dari 38,5% fruktosa dan 31% glukosa, sisanya 12,9% gula yang terdiri dari maltose, sukrosa dan gula lain. Kristalisasi madu merupakan aspek penting dalam komposisi gula madu, dimana rasio fruktosa dan glukosa merupakan faktor yang menentukan terjadinya kristalisasi. Menurut Minarti, Jaya dan Merlina (2016) rasio rata-rata fruktosa dan glukosa adalah 1,2:1, dimana rasio ini sangat tergantung pada sumber nektar yang di ekstraksi oleh lebah. Rasio ini digunakan untuk mengevaluasi kristalisasi madu, karena fruktosa mudah larut dalam air jika dibandingkan dengan glukosa. Madu kaliandra dilaporkan merupakan jenis madu yang paling mudah dalam mengkristal. Hal ini karena madu kaliandra diketahui memiliki kandungan

glukosa lebih tinggi daripada fruktosa, sedangkan madu randu dan madu karet memiliki kandungan fruktosa lebih dominan (Suranto, 2004; Chayati, 2008).

Total gula sampel madu yang diteliti lebih tinggi (73,18-79,68%) dibandingkan laporan kadar gula madu di beberapa Negara seperti empat jenis madu Malaysia memiliki total gula sebesar 55,33-64,93% (Monirruzaaman *et al.*, 2013). Saxena, Gautam, and Sharma (2010) Melaporkan tujuh jenis madu India memiliki total gula sebesar 45,3% sampai 66,7%. Khalil *et al.* (2012) melaporkan empat jenis madu Algeria memiliki total gula sebesar 62,80% sampai 70%. Islam *et al.* (2012) melaporkan beberapa jenis madu Bangladesh memiliki total gula sebesar 42,80% sampai 60,67%. Perbedaan ini dikaitkan dengan pengaruh sumber nektar bunga, daerah asal botani, musim dan faktor lingkungan (jenis tanah dan iklim).

5.1.5. Kadar Gula Pereduksi

Gula pereduksi merupakan golongan gula (karbohidrat) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Contoh gula yang termasuk gula reduksi adalah glukosa, manosa, fruktosa, laktosa, maltosa, dan lain-lain. Namun kandungan gula pereduksi utama yang ada dalam madu adalah fruktosa dan glukosa. Standar mutu madu salah satunya didasarkan pada kandungan total gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) yaitu minimal 60% (SNI, 2013). Sementara itu proses produksi madu oleh lebah itu sendiri merupakan proses yang kompleks, sehingga kemungkinan besar terjadi perbedaan kadar dan komposisi gula pereduksi di antara berbagai jenis madu. Kadar total gula pada madu kaliandra, madu karet, dan madu randu disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Rerata kadar gula pereduksi tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Gula Pereduksi (%)
Madu Kaliandra	77,99 ± 2,1 ^a
Madu Karet	70,78 ± 1,61 ^b
Madu Randu	75,15 ± 1,62 ^{bc}

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Data pada Tabel 9 menunjukkan nilai kadar gula pereduksi yang bervariasi dengan nilai berkisar antara 70,78% sampai 77,99% dengan tingkat perbedaan sangat nyata (p<0,01). Madu kaliandra memiliki kadar gula pereduksi paling tinggi dengan nilai sebesar 77,99%, diikuti oleh madu randu dengan nilai sebesar 75,15%, dan madu karet dengan nilai sebesar 70,78%, dengan demikian semua jenis sampel tersebut memenuhi ketentuan yang ditetapkan oleh SNI 3545:2013 yaitu minimal 60%.

Madu kaliandra, madu karet, dan madu randu memiliki kadar gula pereduksi lebih tinggi dibandingkan kadar gula pereduksi pada madu empat jenis madu Malaysia yaitu 52,17- 62,17% (Monirruzaaman *et al.*, 2013), empat jenis madu Algeria yaitu 60,19-67,70% (Khalil *et al.*, 2012), dan tujuh jenis madu India yaitu 50,0-66,7% (Saxena *et al.*, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan jenis nektar bunga dan daerah asal madu memiliki kandungan gula pereduksi yang berbeda pula. Menurut Purbaya (2002) komposisi gula pereduksi tiap-tiap madu kemungkinan dapat mempengaruhi khasiat madu terutama dalam proses pengobatan.

Fruktosa dan glukosa merupakan gula pereduksi yang utama didalam madu yang mana kandungannya bisa mencapai 85-90 % dari karbohidrat yang terdapat dalam madu dan hanya sebagian kecil oligosakarida dan polisakarida (Sihombing, 2007). Pada umumnya kandungan fruktosa lebih tinggi daripada kandungan glukosa dalam madu. Rasio fruktosa dan glukosa ini adalah faktor penting untuk terjadinya kristalisasi pada madu. Madu yang memiliki kadar

glukosa lebih tinggi dari fruktosa lebih muda mengalami kristalisasi. Oleh karena itu rasio fruktosa/glukosa dan glukosa/air merupakan parameter yang digunakan untuk membantu memperkirakan kecenderungan madu untuk mengkristal (National Honey Board, 2006).

Madu kaliandra dan madu karet dilaporkan memiliki kandungan glukosa lebih tinggi daripada fruktosa, sedangkan madu randu mempunyai kadar fruktosa yang tinggi daripada glukosa (Suranto, 2004; Savitri, Minarti, Jaya dan Merlina, 2016; Hastuti, dan Suedy, 2017). Tingginya gula pereduksi madu kaliandra mungkin disebabkan oleh kandungan glukosanya yang tinggi, begitu pula pada madu karet. Adapun madu randu telah dikenal memiliki kandungan fruktosa yang tinggi yang diketahui dari fisiknya yang berasa manis buah. Ratnayani, Adhi, dan Gitadewi (2008) melaporkan kandungan gula pereduksi madu randu sebesar 68,12% berdasarkan kandungan fruktosa dan glukosanya yang nilainya berturut-turut sebesar 40,99% dan 27,13%. Dari laporan ini tampak jelas bahwa madu randu memiliki kandungan fruktosa lebih tinggi daripada kandungan glukosanya. Monirruzaaman *et al.* (2013) juga melaporkan kandungan gula pereduksi madu karet dari Negara Malaysia dengan nilai sebesar 60,61%. Kadar gula pereduksi hasil penelitian ini lebih tinggi dari yang dilaporkan tersebut. Perbedaan ini pasti terkait dengan tempat pengambilan sampel yang berbeda sehingga hasilnya juga berbeda.

5.1.6. Total Padatan Terlarut (TPT) dan Konduktivitas Listrik (KL)

Total padatan terlarut (TPT) adalah ukuran gabungan kandungan zat anorganik dan organik yang terkandung dalam madu, termasuk molekul, molekul terionisasi, mikro-granul (larutan koloid) atau bentuk tersuspensi (Islam *et al.*, 2012; Khalil *et al.*, 2012; Moniruzzaman *et al.*, 2013). Nilai total padatan terlarut (TPT) biasanya diukur bersamaan dengan konduktivitas listrik

(KL).Konduktivitas listrik adalah salah satu faktor terpenting untuk menentukan karakteristik fisik madu dan merupakan pengukuran fisikokimia yang penting untuk otentikasi madu unifloral (Khalil *et al.*,2012; Moniruzzaman *et al.*, 2013). Menurut Direktif Uni Eropa (2002) kandungan KL madu idealnya harus lebih rendah dari 0,8 mS/cm. Nilai Total padatan terlarut dan konduktivitas listrik pada madu kaliandra, madu karet dan madu randu disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Rerata Total padatan terlarut (TPT) dan konduktivitas listrik (KL)

Jenis Madu	TPT (ppm)	KL (mS/cm)
Madu Kaliandra	465,63 ± 7,46 ^a	0,94 ± 0,05 ^a
Madu Karet	369,85 ± 7,66 ^b	0,72 ± 0,03 ^b
Madu Randu	332,55 ± 6,82 ^c	0,60 ± 0,04 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Tabel 10 menunjukkan bahwa nilai TPT berkisar antara 332,55-465,63 ppm dan memiliki perbedaan sangat nyata (p<0,01) diantara jenis madu. Nilai TPT madu karet dan madu randu sebanding dengan hasil temuan Khalil *et al.* (2012) pada jenis madu Algeria yaitu berkisar antar 208,0-399,3 ppm, dan laporan Moniruzzaman *et al.* (2013) pada empat jenis madu Malaysia yaitu berkisar antara 206,67-368,33 ppm. Adapun madu kaliandra memiliki kadar TPT paling tinggi dengan nilai sebesar 465,63 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa madu kaliandra lebih kaya akan zat organik dan anorganik daripada madu karet dan madu randu. Islam *et al.* (2012) juga melaporkan hasil yang lebih tinggi pada sampel madu BDH-6 sebesar 496,3 ppm dan sampel madu BDH-7 sebesar 662,3 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa variasi kadar TPT dipengaruhi oleh jenis sumber bunga dan asal geografik tanaman. Menurut Finola *et al.* (2007) Variabilitas kadar TPT madu bisa disebabkan oleh proses pemanenan, teknik pemeliharaan lebah dan bahan yang dikumpulkan oleh lebah selama mencari makan di flora (Finola *et al.*, 2007).

Konduktivitas listrik (KL) pada tiga jenis madu yang diteliti berkisar antara 0,60-0,94 mS/cm. Hasil ini sebanding dengan hasil temuan Saxena, Gautam dan Sharma (2010) pada tujuh jenis madu India dengan nilai KL berkisar antara 0,33-0,94 mS/cm. Madu karet memiliki KL sebesar 0,60 mS/cm dan madu randu memiliki KL sebesar 0,72 mS/cm. Kedua jenis madu ini memiliki kisaran nilai KL sesuai dengan yang direkomendasikan oleh Direktif Uni Eropa (2002) yaitu tidak lebih dari 0,8 mS/cm. Sedangkan madu kaliandra memiliki nilai KL sebesar 0,94 mS/cm yang berarti melebihi nilai yang telah direkomendasikan oleh Direktif Uni Eropa (2002). Hal ini diakibatkan oleh kadar TPT pada madu kaliandra yang lebih tinggi sehingga nilai KL nya juga lebih tinggi daripada madu karet dan madu randu. Tingginya nilai TPT pada madu kaliandra bisa disebabkan oleh kandungan serbuk sari yang tinggi didalamnya sehingga menyebabkan kandungan KL nya juga ikut naik. Hal ini sesuai dengan pendapat Khalil *et al.* (2012) bahwa nilai KL berubah bila jumlah Serbuk sari tanaman menurun. Meskipun nilai KL madu kaliandra melebihi nilai yang telah direkomendasikan bukan berarti madu kaliandra tidak murni, hal ini hanya disebabkan kadar TPT nya yang tinggi sehingga menyebabkan KL juga ikut tinggi. Nilai TPT memang berbanding lurus dengan nilai KL, dimana semakin tinggi TPT madu maka semakin tinggi pula KL nya. Hal ini diperkuat dengan hasil temuan Saxena, Gautam dan Sharma (2010) yang menemukan korelasi antara TPT dengan KL dengan nilai sebesar 0,98, serta temuan Ouchemoukh *et al.* (2007) pada beberapa madu Algeria dengan nilai korelasi sebesar 0,92. Nilai KL pada madu kaliandra juga sama dengan temuan Saxena, Gautam dan Sharma (2010) bahkan lebih rendah dari hasil temuan Gomes *et al.* (2010) yang melaporkan kandungan KL pada madu Algeria dengan nilai tertinggi sebesar 1,61 mS/cm.

5.1.7. Kadar HMF

Hidroksimetilfurfural (HMF) merupakan produk dekomposisi gula yang terbentuk pada madu pada saat pemrosesan panas dan penyimpanan. HMF dalam madu merupakan produk yang dihasilkan dari perombakan monosakarida dalam madu (fruktosa dan glukosa) dalam suasana asam dan dengan bantuan panas (Turhanet, Korhan, Gurel, Reyhan, and Tavukcuoflu, 2008). Kadar HMF dalam madu merupakan faktor penting untuk menguji tingkat kemurnian dan kesegeran madu. HMF biasanya hadir lebih sedikit pada madu segar, tapi akan meningkat selama proses pemanasan atau karena akibat penuaan. Rerata kadar HMF pada madu kaliandra, madu karet, dan madu randu ditunjukkan pada Tabel 11.

Tabel 11. Rerata kadar HMF pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar HMF(mg/kg)
Madu Kaliandra	38,43 ± 1,33 ^a
Madu Karet	43,47 ± 1,64 ^b
Madu Randu	47,52 ± 1,54 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Tabel 11 menunjukkan bahwa kadar HMF pada madu kaliandra, madu karet, dan madu randu dengan nilai yang bervariasi yaitu berkisar antara 38,43 mg/kg sampai 47,52 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa tiga jenis madu tersebut masih dalam keadaan segar dan bermutu baik karena telah memenuhi peraturan yang ditetapkan oleh SNI 3545:2013 yakni maksimal 50 mg/kg.

Kadar HMF paling tinggi terdapat pada madurandu (47,52 mg/kg), yang selanjutnya adalah madu karet (43,47 mg/kg) dan madu kaliandra (38,43 mg/kg). Hasil ini bisa dihubungkan dengan kandungan asam yang dimiliki masing-masing madu dimana madu randu memiliki tingkat pH paling rendah dibandingkan madu karet dan madu kaliandra, sehingga madu randu memiliki kadar HMF paling

tinggi. Hal ini karena reaksi pembentukan HMF adalah reaksi yang dikatalisis oleh asam yang berasal dari asam-asam organik dalam madu.

Faktor penting yang mempengaruhi kadar HMF dalam madu adalah Suhu, lama penyimpanan dan penambahan fruktosa. Kenaikan suhu mampu meningkatkan kadar HMF, hal ini dibuktikan dengan beberapa hasil penelitian yang menyatakan bahwa pada suhu 4-65 °C konsentrasi HMF pada madu masih di bawah 40 mg/kg, tapi ketika madu disimpan pada suhu 70 °C setelah 96 jam kadar HMF pada madu mencapai 91 mg/kg (Fellico *et al.*, 2004; Turhan *et al.*, 2008; Ajlouni and Sujirapinyokul, 2010; Esceriche *et al.*, 2008). Waktu simpan juga menjadi faktor penting dalam pembentukan HMF. Sampel madu yang disimpan selama 4 tahun pada suhu 20 °C, mampu meningkatkan kadar HMF sebanyak 52,44% (Kesic *et al.*, 2014). Selanjutnya dalam masalah penyimpanan, Khalil *et al.* (2010) juga melaporkan madu tualang Malaysia yang disimpan dalam waktu 12-24 bulan memiliki kadar HMF yang signifikan mulai dari 128,19-1131,76 mg/kg. Selain itu, Penambahan fruktosa sebagai pemanis dapat pula meningkatkan kadar HMF mencapai 100 mg/kg (Makawi, 2009).

5.2. Komponen Bioaktif

5.2.1. Kadar Fenolik

Kadar fenolik diukur berdasarkan keberadaan asam galat dalam senyawa fenolik dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Folin-Ciocalteu adalah pereaksi anorganik yang dapat membentuk larutan kompleks dengan senyawa fenolik. Reaksi dari Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolik akan membentuk warna kuning, selanjutnya akan berwarna biru saat direaksikan dengan natrium karbonat. Semakin tinggi kadar fenolik pada sampel, maka secara visual warna

biru yang terbentuk akan semakin pekat. Warna yang terbentuk tersebut dapat dideteksi oleh sinar tampak pada panjang gelombang 750 nm.

Tabel 12. Rerata kadar fenolik pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Fenolik (mg GAE/100 g)	
Madu Kaliandra	557,93 ± 13,41 ^a	
Madu Karet		385,63 ± 24,86 ^b
Madu Randu	309,12 ± 33,40 ^c	

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Data pada Tabel 12 menunjukkan bahwa kadar fenolik pada tiga jenis madu memiliki perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) berdasarkan hasil analisis ragam dan uji DMRT. Hal ini membuktikan bahwa perbedaan jenis nektar akan memberikan kadar fenolik yang berbeda pula. Hasil yang sama juga telah banyak dilaporkan bahwa jenis nektar akan mempengaruhi kadar total fenolik dalam madu, seperti laporan dari Khalil *et al.* (2012), Moniruzzaman *et al.* (2013), dan Pontis *et al.* (2014).

Kadar fenolik pada tiga jenis madu yang teliti berkisar antara 309,12-557,93 mg GAE/100g. Nilai ini jauh lebih besar dibandingkan nilai yang dilaporkan oleh Saxena, Gautam and Sharma (2010) pada tujuh jenis madu Indian dengan nilai sebesar 47-98 mg GAE/100 g, laporan oleh Khalil *et al.* (2012) pada empat jenis madu Algeria dengan nilai sebesar 411,10-498,16 mg GAE/kg, laporan oleh Moniruzzaman *et al.* (2013) pada empat jenis madu Malaysia dengan nilai sebesar 144,51-580,03 mg GAE/kg, dan laporan oleh Pontis *et al.* (2014) pada sepuluh madu multiflora Brazil dengan nilai sebesar 250-509 mg GAE/kg.

Madu kaliandra memiliki kadar fenolik paling tinggi yaitu sebesar 557,93 mg GAE/100 g, diikuti oleh madu karet dengan nilai sebesar 385,63 mg GAE/100 g, dan madu randu sebesar 309,12 mg GAE/100 g. Kadar fenolik pada madu kaliandra bisa menjadi indikasi bahwa madu kaliandra memiliki potensi

antioksidan lebih tinggi daripada madu karet dan madu randu. Hal ini karena senyawa fenolik adalah senyawa antioksidan dalam madu yang memiliki peranan utama dalam meredam radikal bebas sebagaimana yang telah dilaporkan oleh AlJadi *and* Kamaruddin (2004), Bertoncej *et al.* (2007), Socha Juszcak, Pietrzyk *and* Fortuna (2009), Ferreira *et al.* (2009), Kaskoniene, Maruska *and* Kornysova (2009), dan Ita (2013).

5.2.2. Kadar Flavonoid

Kadar flavonoid diukur berdasarkan keberadaan kuersetin didalam madu, nilainya diekpresikan sebagai mg ekuivalen kuersetin per 100 gram madu (mg QE/100 g). Analisis kandungan flavonoid dilakukan dengan penambahan pereaksi $AlCl_3$. Sebagai asam lewis, $AlCl_3$ akan membentuk ikatan kompleks dengan gugus hidroksil dari senyawa flavonoid. Perubahan ini diidentifikasi melalui absorban pada daerah sinar tampak melalui alat spektrofotometer. Semakin banyak kandungan senyawa flavonoid dalam suatu sampel maka secara visual warna kuning yang terbentuk akan semakin pekat. Rerata kadar flavonoid disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Rerata kadar flavonoid pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Total Flavonoid (mg QE/100 g)
Madu Kaliandra	156,27 ± 5,69 ^a
Madu Karet	63,40 ± 3,78 ^b
Madu Randu	47,25 ± 1,49 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Hasil analisis ragam dan uji DMRT (Tabel 13) menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kadar flavonoid pada masing-masing madu. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa jenis madu dari sumber nektar yang berbeda akan memiliki kadar flavonoid yang berbeda secara signifikan

(Khalil *et al.*, 2012; Moniruzzaman *et al.*,2013; Pontis *et al.*, 2014; dan Udor, Mitrănescu, Galiù, and Ile, 2015).

Kadar flavonoid pada tiga jenis madu yaitu berkisar antara 47,25-156,27,93 mg QE/100 g. Seperti halnya pada nilai kadar fenolik, madu kaliandra menempati posisi pertama dengan kadar flavonoid tertinggi sebesar 156,27,93 mg QE/100 g, diikuti oleh madu karet dengan nilai sebesar 63,40 mg QE/100 g, dan madu randu dengan nilai sebesar 47,25 mg QE/100 g. Hal ini karena senyawa flavonoid merupakan bagian dari senyawa fenolik, serta merupakan golongan terbesar dalam senyawa fenolik (Apak *et al.*, 2007; Khalil *et al.*, 2012; Moniruzzaman *et al.*,2013).

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan kuat dalam meredam radikal bebas. Ren *et al.* (2003) menyatakan bahwa asupan flavonoid yang terdapat pada buah dan sayuran berhubungan dengan rendahnya prevalensi kanker pada manusia. Khalil *et al.* (2012) juga melaporkan kadar flavonoid empat jenis madu Algeria, dimana kadar flavonoid memiliki hubungan yang sangat kuat dengan aktivitas antioksidan dalam madu. Hal ini juga mengindikasikan bahwa madu kaliandra memiliki potensi antioksidan lebih baik daripada madu karet dan madu randu.

Khalil *et al.*, (2010) melaporkan hasil penelitiannya terhadap empat jenis madu dari negara Algeria dengan hasil sebesar antara 27,07-71,78 mg CE/kg. Pada lima puluh empat madu Bengal India, Das, Mukherjee and Dhar (2013) melaporkan kadar total flavonoid sebesar antara 5,12-19,4 mg QE/100 g. Moniruzzaman *et al.*, (2014) juga melaporkan kadar total flavonoid empat jenis madu Malaysia dengan nilai sebesar antara 14,20-156,82 mg CE/kg. Hal ini berarti kadar flavonoid pada madu kaliandra, madu karet dan madu randu dalam penelitian ini jauh lebih tinggi daripada kadar flavonoid pada madu dari beberapa Negara tersebut.

5.2.3.Kadar Vitamin C

Vitamin C merupakan antioksidan yang tangguh. Ia membantu menjaga kesehatan sel, meningkatkan penyerapan asupan zat besi dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh. Disamping berfungsi sebagai antioksidan, vitamin C memiliki fungsi menjaga dan memelihara kesehatan pembuluh-pembuluh kapiler, kesehatan gigi dan gusi. Vitamin C membantu penyerapan zat besi dan dapat menghambat produksi nitrosamin, zat pemicu kanker. Vitamin C juga membantu penyembuhan luka (Kumalaningsih, 2006). Kadar vitamin C pada tiga jenis madu yang diteliti yaitu sebesar 25,47 mg/100 g sampai 31,04 mg/100 g seperti yang ditunjukkan pada Tabel 14.

Tabel 14. Rerata kadar vitamin C pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Vitamin C (mg/100 g)
Madu Kaliandra	31,04 ± 1,45 ^a
Madu Karet	28,22 ± 1,25 ^{ab}
Madu Randu	25,47 ± 1,62 ^b

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$)

Berdasarkan hasil analisis ragam dan uji lanjut DMRT (Tabel 14), masing-masing madu memiliki tingkat perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$). Ini artinya kadar vitamin C bervariasi pada masing-masing madu. Kadar vitamin C tertinggi terdapat pada madu kaliandra yaitu sebesar 31,04 mg/100 g, sedangkan yang paling terkecil terdapat pada madu randu yaitu sebesar 25,47 mg/100 g. Hal menunjukkan bahwa perbedaan jenis nektar akan memberi kadar vitamin C yang berbeda pula.

Hasil penelitian ini tampak lebih rendah dari yang dilaporkan oleh Budiarti, Sumantri dan Istyaningrum (2011) tentang kadar vitamin C madu randu dari daerah Semarang dengan nilai sebesar 34 mg/100 g. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh faktor daerah asal botani yang berbeda, sehingga kadar vitamin

C juga berbeda. Kadar vitamin C bukan hanya dipengaruhi oleh sumber nektar saja, namun juga faktor-faktor lainnya sebagaimana yang dinyatakan oleh Krpan *et al.* (2009) bahwa sumber nektar bunga, daerah asal botani, musim dan faktor lingkungan seperti jenis tanah dan iklim, faktor genetik, serta metode pengolahan berpengaruh terhadap komposisi madu dan kapasitas antioksidannya.

Tabel 15. Kebutuhan vitamin C menurut usia berdasarkan RDA (Recommended Dietary Allowance)

Usia	Kebutuhan vit.C mg/hari
0-6 bulan	40 (AI)
7-12 bulan	50 (AI)
1-3 tahun	15 mg/hari
4-8 tahun	25 mg/hari
9-13 tahun	45 mg/hari
14-18 dan orang dewasa	75-90 mg/hari

Sumber : Food and Nutrition Board (2000) dalam Muhammad (2009)

Tubuh manusia membutuhkan asupan vitamin C untuk menjaga kesehatan tubuh. Menurut hasil penelitian Simon *et al.* (2003) bahwa individu dengan rendah vitamin C dalam darah akan mudah terinfeksi bakteri *Helicobacter pylori* yaitu bakteri yang menyebabkan tukak lambung dan meningkatkan resiko kanker usus. Kadar vitamin C dalam madu bisa dipergunakan untuk memenuhi kebutuhan vitamin C tubuh manusia. Pada dasarnya kebutuhan vitamin C bervariasi tergantung pada usia individu sebagaimana yang ditampilkan pada Tabel 15.

5.2.4. Kadar Protein

Kadar protein dalam madu ditentukan menggunakan bovine serum albumin (BSA) sebagai standar. Kehadiran kadar protein dalam madu biasanya berjumlah sedikit karena madu bukan sumber protein melainkan sumber karbohidrat. Namun kehadiran serbuk sari dalam madu bisa meningkatkan kadar protein. Kadar protein pada madu kaliandra, madu karet dan madu randu disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Rerata kadar protein pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Protein(mg/100 g)
Madu Kaliandra	709,38 ± 15,84 ^a
Madu Karet	387,18 ± 19,42 ^b
Madu Randu	326,15 ± 9,92 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Tabel 16 dapat diketahui bahwa kadar protein pada tiga jenis madu berkisar antara 326,2-709,4 mg/100 g dengan tingkat perbedaan sangat nyata (p<0,01). Madu kaliandra memiliki kadar protein paling tinggi yaitu sebesar 709,4 mg/100 g. Hasil ini sangat tinggi untuk kadar protein madu. *USDADatabase* (2017) melaporkan kadar protein madu yaitu sebesar 300 mg/100 g madu. Saxena, Gautam dan Sharma (2010) juga menyatakan bahwa kadar protein madu biasanya kurang dari 500 mg/100 g. Selisih kadar protein pada madu kaliandra dengan madu karet dan madu randu juga sangat jauh. Tingginya kadar protein pada madu kalindara kemungkinan disebabkan oleh kandungan serbuk sarinya yang tinggi, dimana serbuk sari merupakan sumber protein bagi lebah. Kehadiran serbuk sari dalam jumlah besar bisa terjadi karena disekitar lahan penggembalaan terdapat tanaman sumber serbuk sari dengan areal yang sangat luassehingga lebah mengambilnya dalam jumlah besar. Pada saat proses ekstrasi, madu tercampur dengan serbuk sari (pollen) yang dikumpulkan lebah dalam sarangnya. Moniruzzaman *et al.* (2013) juga mendapatkan kadar protein pada madu dari pohon sourwood melebihi dari yang dianjurkan yaitu sebesar 559 mg/100 g. Namun kadar protein madu kaliandra mash lebih besar dari kandungan ini. Meskipun demikian ada pula yang melaporkan kadar protein yang tinggi yaitu pada beberapa madu Algeria memiliki kadar protein antara 370 sampai 940 mg/100 g madu (Ouchemoukh, Louaileche *and* Schweitzer, 2007). Islam *et al.* (2012) juga melaporkan kadar protein yang tinggi pada madu Banglades yaitu antara 90 sampai 860 mg/100 g.

Kadar protein madu karet dan madu randu dalam penelitian ini hampir sama dengan laporan Khalil *et al.* (2012) pada empat jenis madu Algeria yaitu berkisar antara 300,73 sampai 409,5 mg/100 g, serta lebih tinggi dari laporan Saxena, Gautam dan Sharma (2010) pada tujuh sampel madu India yaitu berkisar antara 48 sampai 229,3 mg/100 g. Menurut Saxena, Gautam dan Sharma (2010) dan Alvarez *et al.* (2010) bahwa kandungan protein dalam madu dapat dikaitkan kehadiran enzim yang tambah oleh lebah kedalam madu, dan yang lainnya dianggap berasal dari nektar.

5.2.5. Kadar Prolin

Prolin adalah jenis asam amino yang paling banyak terdapat dalam madu dan digunakan sebagai standar untuk mengukur kandungan asam amino. Prolin diketahui memiliki potensi sebagai antioksidan tinggi (Meda *et al.*, 2005). Madu mengandung 11 dan 21 asam amino bebasyang berbeda dimana prolin merupakan komponen utama (50-80%) dari total asam amino yang ada dalam madu (Islam *et al.*, 2012; Monirizzaman *et al.*, 2013).

Kadar prolin dalam madu dilaporkan terutama berasal dari sekresi ludah lebah selama konversi nektar menjadi madu (Saxena, Gautam dan Sharma, 2010; Khalil *et al.*, 2012; Islam *et al.*, 2012; Moniruzzaman *et al.*, 2013). Menurut Bogdanov (2009) kandungan prolin madu biasanya harus lebih dari 20 mg/100 g. Kadar prolin dalam penelitian ini berkisar antara 56,40-150,15 mg/100 g seperti yang disajikan pada Tabel 17, sehingga kadar prolin tiga jenis madu yang teliti memenuhi dari angka yang ditetapkan.

Tabel 17. Rerata kadar prolin pada tiga jenis madu

Jenis Madu	Kadar Prolin (mg/100 g)
Madu Kaliandra	150,15 ± 5,99 ^a
Madu Karet	88,53 ± 9,42 ^b
Madu Randu	56,40 ± 07,12 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Kadar prolin paling tinggi terdapat pada madu kaliandra dengan nilai sebesar 150,15 mg/100 g dibandingkan madu karet dengan nilai sebesar 88,53 mg/100 g dan madu randu dengan nilai sebesar 88,53 mg/100 g. Hal ini mengindikasikan bahwa madu kaliandra memiliki potensi antioksidan lebih besar daripada madu karet dan madu randu. Namun secara keseluruhan kadar prolin pada tiga jenis madu tersebut lebih tinggi dari pada madu Malaysia dengan nilai berkisar antara 18,48-56,49 mg/100g (Moniruzzaman *et al.* (2013) dan Madu India berkisar antara 13,3-67,4 mg/100g (Saxena, Gautam dan Sharma, 2010). Kadar prolin dalam madu merupakan salah satu indikator kualitas madu, tingkat kematangan madu serta mengurangi kemungkinan adanya modifikasi gula atau pemalsuan (Khalil *et al.*, 2012; Moniruzzaman *et al.*, 2013). Menurut Islam *et al.* (2012) kadar prolin dibawah 18,3 mg/100 g dicurigai adanya pemalsuan madu.

5.3. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena telah banyak dipergunaan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Metode ini juga merupakan metode yang sederhana, sudah baku dan memerlukan sedikit sampel sebagai senyawa pendeteksi (Asih, Ratnayani dan Swardana, 2012). Molyneux (2004) 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. 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). 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. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Rerata aktivitas antioksidan pada tiga jenis madu

Jenis Madu	IC ₅₀ (mg/ml)
Madu Kaliandra	3,36 ± 0,89 ^a
Madu Karet	15,08 ± 1,49 ^b
Madu Randu	16,83 ± 1,23 ^b

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (p<0,01)

Nilai aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *inhibitor concentration* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ adalah nilai konsentrasi sampel untuk mengukur kemampuan aktivitas antioksidan suatu sampel untuk meredam radikal bebas sebesar 50%, semakin rendah nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Molyneux, 2004).

Berdasarkan tabel diatas, madu kaliandra memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai sebesar 3,36 mg/ml diikuti oleh madu karet dengan nilai sebesar 15,08 mg/ml, dan madu randu dengan nilai sebesar 16,83 mg/ml. Nilai aktivitas antioksidan pada tiga jenis madu tersebut berbeda sangat nyata (p<0,01) berdasar analisis ragam dan uji DMRT. Hal ini menunjukkan bahwa sumber nektar tanaman sangat memengaruhi kandungan antioksidan pada madu. Nilai aktivitas antioksidan mengikuti urutan nilai kadar fenolik, kadar flavonoid, dan vitamin C. Hal ini karena kadar fenolik, kadar flavonoid, dan vitamin C merupakan senyawa antioksidan yang selalu hadir dalam madu, serta mengindikasikan adanya hubungan yang kuat antara tiga jenis senyawa tersebut dengan aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan madu kaliandra, madu karet, dan madu randu yaitu antara 3,36-16,83 mg/ml. Nilai tersebut dibawah 50% yang berarti tiga jenis madu tersebut tergolong memiliki aktivitas antioksidan kuat karena mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. Hasil ini juga lebih tinggi daripada laporan

Redha dan Rusiardy (2013) dalam penelitiannya pada madu hutan dari Danau Sentarum Kabupaten Kapuas Hulu Kalimantan Barat yang mendapatkan hasil sebesar 179,91 mg/ml, dan laporan Neupane *et al.* (2015) pada dua puluh dua madu Nepal dimana nilai aktivitas antioksidannya sebesar 56-72 mg/ml.

5.4. Korelasi diantara Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan diantara parameter khususnya hubungan diantara kandungan bioaktif dan aktivitas antioksidan. Data pada Tabel 19 menunjukkan hubungan yang positif dan kuat diantara bioaktif dan aktivitas antioksidan. Nilai korelasi antara intensitas warna (L^*) dengan kadar fenolik, flavonoid, vitamin C, protein, prolin dan aktivitas antioksidan secara berturut-turut adalah 0,742, 0,843, 0,552, 0,837, 0,716 dan 0,853. Nilai ini menunjukkan hubungan yang kuat antara warna dengan parameter tersebut. Dengan demikian pigmen warna pada madu memang memiliki hubungan yang kuat dengan kapasitas antioksidan sebagaimana yang telah dilaporkan dalam penelitian-penelitian sebelumnya (Saxena, Gautam dan Sharma, 2010; Khalil *et al.*, 2010; Das, Mukherjee and Dhar, 2013; Moniruzzaman *et al.*, 2014).

Tabel 19. Korelasi diantara kadar bioaktif dan aktivitas antioksidan

	Warna (L^*)	Fenolik	Flavonoid	Vitamin C	Protein	Prolin	DPPH (IC_{50})
Warna (L^*)	1	0,742	0,843	0,552	0,837	0,716	0,853
Fenolik		1	0,986	0,969	0,988	0,999	0,983
Flavonoid			1	0,914	0,999	0,979	0,999
Vitamin C				1	0,918	0,977	0,906
Protein					1	0,981	0,999
Prolin						1	0,975
DPPH (IC_{50})							1

Kadar fenolik, flavonoid, vitamin C, protein dan prolin juga memiliki korelasi yang kuat dengan aktivitas antioksidan dengan nilai yang hampir

sempurna (0,983, 0,999, 0,906 0,999, 0,975) karena mendekati angka satu. Tingginya angka korelasi ini juga terlihat dari masing-masing nilai bioaktif dimana semakin tinggi nilai pada masing-masing bioaktif semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Hal ini karena fenolik, flavonoid, vitamin C, protein dan prolin merupakan senyawa antioksidan.

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, bahkan senyawa ini merupakan senyawa utama dalam madu yang berperan sebagai antioksidan. Hal ini karena madu merupakan produk hasil pengolahan nektar tumbuhan oleh lebah dimana kandungan nektar sendiri adalah senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan. Menurut Ferreira, Aires, Barreira *and* Estevinho (2009), didalam madu lebih dari 150 senyawa polifenol mengandung flavonoid, asam fenolik, katekin, dan turunan asam sinamik yang merupakan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Adapun senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dalam senyawa fenolik. Pontis, Costa, Silva *and* Flachi (2014) juga menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dalam madu terutama disebabkan oleh kedua senyawa ini karena terdapat korelasi yang kuat antara aktivitas antioksidan dengan senyawa fenolik dan flavonoid.

Selain senyawa fenolik dan flavonoid, madu juga mengandung vitamin C sebagai senyawa antioksidan. Vitamin C merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan juga berperan dalam sel. Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan superoksida dan anion hidroksil, serta berbagai hidroperoksida lemak. Sedangkan sebagai antioksidan pemutus reaksi berantai, memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E tereduksi. Besarnya hubungan vitamin C terhadap aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai korelasinya yang kuat dengan aktivitas antioksidan yaitu sebesar 0,906. Khalil *et al.* (2010) juga

melaporkan korelasi yang kuat antara vitamin C dengan aktivitas antioksidan pada empat jenis madu Algeria dengan nilai korelasi sebesar 0,785. Namun nilai korelasi antara vitamin C dengan aktivitas antioksidan masih dibawah nilai korelasi fenolik dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Hal ini berkaitan dengan kadar vitamin C yang lebih rendah daripada kadar fenolik dan flavonoid didalam madu. Selain itu laporan dari Moniruzzaman *et al.* (2013) pada empat jenis madu Malaysia lebih rendah lagi yaitu sebesar 0,542.

Kadar protein dan prolin dalam madu juga mempunyai potensi sebagai antioksidan. Hal ini ditunjukkan dengan terdapatnya korelasi yang kuat antara senyawa tersebut dengan aktivitas antioksidan. Kadar protein memiliki korelasi dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,999 dan kadar prolin memiliki korelasi dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,975. Dengan demikian persentase total kandungan protein dan prolin dalam madu merupakan faktor penting terhadap aktivitas antioksidan. Saxena, Gautam dan Sharma (2010) pada tujuh madu India juga mendapatkan korelasi yang tinggi antara protein dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,88 dan proline dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,96. Temua yang hampir sama juga didapatkan oleh Khlail *et al.* (2012) pada empat jenis madu Algeria dimana protein dengan aktivitas antioksidan memiliki korelasi sebesar 0,940 dan proline dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,956.