

UJI FITOKIMIA DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL PROPOLIS LEBAH KELULUT (*Tetragonula iridipennis*) DARI SAMARINDA KALIMANTAN TIMUR

Submitted : 21 November 2019

Edited : 15 Juni 2020

Accepted : 25 Juni 2020

Binti Khairunnisa¹, Enih Rosamah¹, Harlinda Kuspradini¹, Irawan Wijaya Kusuma¹, Sukemi³,
Nataniel Tandirogang^{2, 4}, Enos Tangke Arung^{1, 2*}

¹Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan
Universitas Mulawarman,

²Pusat Unggulan Ipteks Perguruan Tinggi Obat dan Kosmetik dari Hutan Tropika
Lembab dan Lingkungannya

³Laboratorium Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Mulawarman

⁴Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

*Koresponding : tangkearung@yahoo.com

ABSTRACT

The study aims to identify the secondary metabolite compounds contained in the ethanol extract Propolis Tetragonula Iridipennis and determine the antioxidant activity. Propolis is extracted from the beehive of Kelulut (Tetragonula Iridipennis) with a method of maceration of ethanol 96% produce a yield of 66.73%. Propolis extract contains alkaloid compounds, flavonoids, triterpenoids, tannins and carbohydrates. Propolis extract tested its antioxidant activity using the DPPH method (1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) with a wavelength of 514 nm. Results showed a percentage of propolis extract free radicals 59% in concentrations of 100 ppm with IC50 33.74 ppm so that propolis extract is potentially as an antioxidant.

Keywords : antioxidants, DPPH, Propolis Extract (EEP), Tetragonula Iridipennis

PENDAHULUAN

Menurut Permenhut No: P.35/Menhut-II/2007 Pasal 1 (3) Hasil Hutan Bukan Kayu merupakan hasil hutan hayati baik nabati maupun hewani beserta produk turunan dan budidaya kecuali kayu yang berasal dari hutan⁽¹⁾. Banyak sekali produk hasil hutan bukan kayu yang dapat dimanfaatkan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Salah satu produk hasil hutan bukan kayu yang sudah lama diketahui manfaatnya adalah produk lebah.

Lebah kelulut merupakan jenis lebah tidak bersengat (*stingless bee*) yang

merupakan lebah penghasil madu. Lebah kelulut tidak hanya bermanfaat pada madunya, tetapi juga pada sarangnya yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber propolis dan menjadikannya suatu produk terobosan yang berguna dan disukai di kalangan masyarakat⁽²⁾.

Propolis merupakan resin yang bercampur dengan air liur lebah. Propolis merupakan produk dari sarang lebah yang sudah sejak lama digunakan sebagai antiseptik dan obat luka. Hasil penelitian modern menunjukkan bahwa propolis dapat berfungsi sebagai anti inflamasi,

pengobatan serangan jantung, diabetes, kanker, antifungi, antibakteri, dan antioksidan⁽³⁾. Propolis menunjukkan antioksidan paling kuat dari semua produk lebah termasuk lebah madu, *royal jelly* dan *bee pollen*. Aktivitas antioksidan propolis berasal dari zat polifenolnya⁽⁴⁾. Penggunaan propolis dengan kapasitas antioksidan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit terkait dengan peningkatan stres oksidatif seperti kanker, penuaan dan penyakit kardiovaskular⁽⁴⁾.

Kalimantan Timur khususnya kelurahan Tanah Merah, Kecamatan Samarinda Utara merupakan salah satu daerah yang membudidayakan beberapa jenis lebah kelulut dan sangat potensial dengan wilayah vegetasi hutan yang masih terjaga kelestarian dan fungsinya serta potensi berbagai macam tanaman perkebunan. Lokasi ini sangat cocok sebagai habitat lebah kelulut dalam mencari makan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah propolis *Tetragonula iridipennis* asal Samarinda Kalimantan Timur, etanol 96%, NaOH 1%, HCl 1%, Pb 1%, Dragendorff, Molish, CH₃COOH, H₂SO₄, Vitamin C (*Ascorbic acid*), DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), aseton, DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dan Kloroform.

Alat-alat yang digunakan antara lain: spatula, cawan petri, aluminium foil, kertas saring, corong, gelas beaker, *shaker*, *rotary vacuum evaporator*, oven, dan *spectrophotometer*.

Ekstraksi Propolis *Tetragonula iridipennis*⁽⁵⁾

Propolis terlebih dahulu dipisahkan dengan bee polen dan kantung madunya. Kemudian propolis dipecahkan dan dipotong-potong menjadi bagian-bagian kecil. Sebanyak 30 gram propolis

Tetragonula iridipennis dimaserasi dengan 350 ml etanol 96% dalam gelas beaker. Kemudian dikocok diatas *shaker* selama 24 jam selama 2 hari. Setelah itu disaring, filtratnya diambil kemudian residu direndam kembali dengan 100 ml etanol 96%. Kegiatan berulang sampai propolis terekstrak seluruhnya yaitu filtrat yang dihasilkan berwarna jernih.

Seluruh filtrat yang terkumpul kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental propolis. Ekstrak kental propolis yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mendapatkan nilai rendemennya.

Analisis Fitokimia Ekstrak Propolis *Tetragonula iridipennis*⁽⁶⁾

Alkaloid

Sejumlah 5 ml ekstrak ditambahkan 2 ml HCl pekat kemudian dimasukkan 1 ml larutan dragendorff. Adanya perubahan warna larutan menjadi jingga atau merah menandakan bahwa ekstrak mengandung alkaloid.

Flavonoid

Sejumlah 1 ml ekstrak diberikan beberapa tetes NaOH 1%. Adanya warna kuning yang terang pada larutan ekstrak dan berubah menjadi tidak berwarna setelah penambahan HCl 1% menandakan adanya flavonoid.

Triterpenoid/Steroid

Sejumlah 1 ml ekstrak dicampur dengan 0,5 ml kloroform; lalu 1,5 ml terkonsentrasi untuk membentuk lapisan ditambahkan H₂SO₄ pekat pada sisi tabung. Apabila terbentuk warna coklat kemerahan diantara permukaan maka mengindikasikan adanya triterpenoid dan jika lapisan atas berwarna merah dan lapisan H₂SO₄ berwarna kuning kehijauan maka menandakan adanya kandungan steroid.

Tannin

Sejumlah 1 ml larutan ekstrak ditambahkan beberapa tetes larutan Pb 1%. Keberadaan tanin dinyatakan positif jika terbentuk endapan kuning pada tabung.

Saponin

Sejumlah 1 ml ekstrak direbus dengan 2 ml aquades selama 10 menit. Kemudian campuran disaring dengan menggunakan kertas saring, lalu dimasukkan 2,5 ml filtrat kedalam tabung erlenmeyer dan diencerkan hingga 10 ml aquades kemudian setelah tercampur rata larutan dikocok selama 2 menit. Jika menghasilkan buih maka menandakan adanya saponin.

Kumarin

Pengujian dilakukan dengan memasukkan etanol sebanyak 1 ml pada tabung, kemudian memasukkan NaOH sebanyak 1 ml. Larutan ekstrak akan berubah menjadi kuning jika positif mengandung kumarin.

Karotenoid

Sejumlah 1 ml larutan ekstrak dimasukkan 1 ml kloroform dan 0,5 ml H₂SO₄ pekat pada tabung. Jika positif mengandung karotenoid apabila muncul warna hijau di permukaan larutan ekstrak.

Karbohidrat

Sejumlah 1 ml ekstrak ditetesi molish, lalu dikocok dan ditambahkan 0,5 ml H₂SO₄ pekat. Jika terbentuk cincin ungu diantara 2 lapisan maka larutan positif mengandung karbohidrat.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis *Tetragonula iridipennis*

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) menggunakan UV-VIS Spectrophotometer pada panjang gelombang 514 nm⁽⁷⁾.

Sebanyak 3 mg ekstrak dilarutkan dalam 1000 µl DMSO. Kemudian divariasikan kedalam 5 konsentrasi yaitu 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 dan 100 ppm. Larutan DPPH dibuat dengan menimbang 3 mg DPPH dilarutkan kedalam 100 ml etanol. Larutan uji disiapkan dengan memasukkan 33 µl sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan ditambahkan 467 µl etanol dan 500 µl larutan DPPH. Selanjutnya larutan uji diinkubasi selama 20 menit dalam ruang minim cahaya.

Larutan uji dibaca absorbansinya menggunakan alat spectrophotometer untuk melihat persentase peredaman DPPH. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C (*ascorbic acid*) yang telah diketahui sebagai antioksidan alami⁽⁸⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Propolis *Tetragonula iridipennis*

Propolis direndam dengan etanol 96% kemudian filtrat disaring menggunakan kertas saring dan dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Selanjutnya ekstrak dikeringkan di dalam oven hingga benar-benar kering. Berat ekstrak etanol propolis *Tetragonula iridipennis* 20,76 gram dengan perolehan rendemen ekstrak adalah 66,73%.

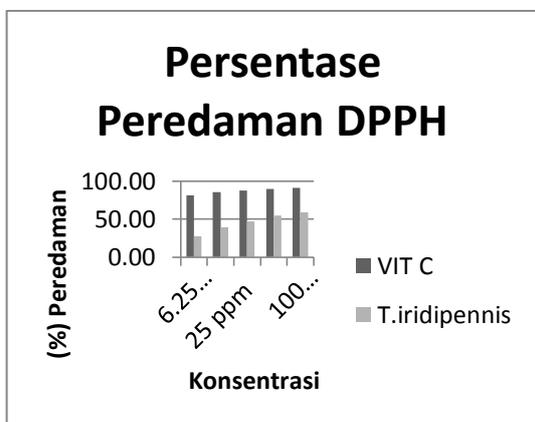
Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Propolis *Tetragonula iridipennis*

Tabel 1. Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Propolis *Tetragonula iridipennis*

Senyawa	Hasil Uji
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Triterpenoid	+
Steroid	-
Tannin	+
Saponin	-
Kumarin	-
Karotenoid	-
Karbohidrat	+

Lebah kelulut mengambil makanan sehari-hari dari sari-sari bunga, embun daun, maupun getah kayu dari tumbuhan di sekitarnya⁽⁹⁾. Selain itu, lebah kelulut juga membawa resin yang digunakan dalam membuat sarangnya. Setiap bulannya lebah kelulut memakan dan membawa resin yang berbeda tergantung dari bunga dan tumbuhan yang memproduksi di sekitar sarang. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol propolis *Tetragonula iridipennis* positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan karbohidrat. Senyawa flavonoid, dan tanin termasuk kedalam senyawa polifenol yang telah diketahui bahwa senyawa polifenol memiliki sifat sebagai pengikat radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif serta bekerja sebagai antiinflamasi⁽⁸⁾.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis *Tetragonula iridipennis*



Gambar 1. Grafik Persentase Peredaman DPPH Ekstrak Etanol Propolis *T. iridipennis*.

Dapat dilihat bahwa ekstrak etanol propolis *Tetragonula iridipennis* dapat menghambat DPPH dengan sangat baik. Pada konsentrasi 6,25 ppm persentase peredaman DPPH sebesar 27,66% ; 12,5 ppm persentase peredaman sebesar 39,26% ; 50 ppm persentase peredaman 54,77% dan

pada konsentrasi 100 ppm persentase peredaman sebesar 59%. Parameter yang digunakan sebagai uji peredaman DPPH adalah nilai IC₅₀ (*half maximal inhibitory concentration*) yaitu besarnya konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50%⁽¹⁰⁾. Nilai IC₅₀ didapatkan dari persamaan regresi polinomial. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan ekstrak terhadap DPPH⁽¹⁰⁾. Ekstrak etanol propolis *Tetragonula iridipennis* memiliki nilai IC₅₀ 33,74 ppm sehingga termasuk kategori antioksidan sangat kuat. Kekuatan aktivitas antioksidan digolongkan kedalam 4 kategori⁽¹¹⁾.

Berikut merupakan tabel tingkat kekuatan aktivitas antioksidan.

Tabel 2. Tingkat Kekuatan Aktivitas Antioksidan

Intensitas Kekuatan	Nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
Lemah	250-500 ppm

Hasil penelitian sebelumnya, ekstrak etanol propolis lebah *Trigona sp.* memiliki kemampuan meredam radikal bebas DPPH dengan sangat baik walau masih jauh dibawah Vitamin C. Penelitian ini menggunakan kontrol positif antioksidan alami yaitu Vitamin C (asam askorbat). Berdasarkan nilai IC₅₀, ekstrak propolis ini mampu menghambat radikal bebas sebanyak 50% jika konsentrasi yang diberikan adalah sebanyak 14,53 ppm sehingga diduga senyawa flavonoid dan tanin dalam propolis berperan aktif dalam mengikat radikal bebas⁽¹²⁾. Penelitian ini memiliki kesamaan dalam hal metode yaitu proses ekstraksi

menggunakan pelarut etanol dan menggunakan metode DPPH.

Penelitian terkait dengan propolis *Tetragonula iridipennis* baru dilaporkan oleh Kothai dan Jayanthi⁽¹³⁾ dimana propolis dari *Tetragonula iridipennis* ini dilaporkan memiliki antioksidan dan antimikroba. Fungsi ini diduga karena propolis ini memiliki kandungan senyawa flavonoid dan fenolik.

SIMPULAN

Analisis fitokimia ekstrak etanol propolis *Tetragonula iridipennis* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan karbohidrat.

Ekstrak etanol propolis *Tetragonula iridipennis* memiliki persentase penghambatan radikal bebas 59% pada konsentrasi 100 ppm dengan nilai IC₅₀ sebesar 33,74 ppm sehingga berpotensi sebagai antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian danai oleh JASTIP Net program (2017-2018) dan Kemenristekdikti (No. 198/UN17.41/KL/2019)

DAFTAR PUSTAKA

1. Permenhut No: P.35/Menhut-II/2007 Pasal 1 (3) tentang Hasil Hutan Bukan Kayu.
2. Ramadhan. 2012. Pembuatan Permen *Hard Candy* Yang Mengandung Propolis Sebagai Permen Kesehatan Gigi. Departemen Teknik Kimia. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok.
3. Wulandari, Diana, dkk. 2013. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Propolis *Trigona spp.* Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Halu Oleo, Kendari. 3 (2): 74-80.
4. Riendriasari, S.D. 2014. Budidaya dan Produk Perlebahan *Trigona spp.* di Lombok, Nusa Tenggara Barat. Seminar Nasional "Peranan dan Strategi Kebijakan Pemanfaatan HHBK dalam Meningkatkan Daya Guna Kawasan Hutan" (pp. 213221). Yogyakarta:Universitas Gadjah Mada.
5. Mantienzo, A.C, dan Lamorena M. 2004. Extraction and Initial Characterization of Propolis from Stingless Bees (*Trigona Biro Fries*). *Proceeding of 7th Asian Apicultural Association Conference and 10th BEENET Symposium and Technofora* Los Banos. Univ Philippines.
6. Senthilmurugan, G.B. Vasanthe, K. Suresh. 2013. Screening and Antibacterial Activity Analysis of some Important Medical Plants. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. Vol.2 Num.2. 146-152.
7. Arung, E.T. 2006. Melanin Biosynthesis Inhibitory Compounds from *Artocarpus heterophyllus* (Desertation). Kyushu University. Japan.
8. Kusuma, dkk. 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian *Murraya konigii*, *Syzygium polyanthum*, and *Zingiber purpura*.
9. Mujetahid, M.A. 2014. Teknik Pemanenan Madu Lebah Hutan. 2014 : 4(1), 36-40.
10. Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating *Antioxidant* Activity. *Songklankarin J. Sci. Thecnol.*, 26(2). 211-219.
11. Suratmo. 2009. Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Antioksidan. <http://fisika.brawijaya.ac.id/>.
12. Sativa, Novriza. Agustin, Rini. 2018. Analisis Uji Kadar Senyawa dan Uji Antioksidan Ekstrak Propolis Coklat dari Lebah *Trigona sp.* JAGROS Vol.2. No. 2 Juni 2018.
13. Kothai, S. Jayanthi, B. 2014. Evaluation Of Antioxidant And Antimicrobial Activity Of Stingless Bee Propolis (*Tetragonula iridipennis*) Of Tamilnadu, India. *Int J Pharm Pharm Sci*, Corpus ID 212523259.