



HUBUNGAN KADAR FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MADU DARI BERBAGAI PROVINSI DI INDONESIA

[The Relationship Between Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Honey from Various Province in Indonesia]

Mahani Mahani¹, Sherlin Regiena Savitri¹, Edy Subroto¹

¹Departemen Teknologi Industri Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran, Sumedang 45363, Indonesia

Email: sherlinregiena@gmail.com (Telp: +6282118780954)

Diterima tanggal 18 Agustus 2022

Disetujui tanggal 19 Agustus 2022

ABSTRACT

Honey contains secondary metabolites, including flavonoid compounds, which have antioxidant activity. The diversity of bee species and food plant sources in Indonesia will have an impact on differences in the composition of secondary metabolites in honey, it is necessary to analyze the influence of feed sources and bee species so as to improve the quality of the honey they produce. This study aims to determine the relationship between total flavonoid levels and antioxidant activity of honey from various provinces in Indonesia. The flavonoid test used UV-vis spectrophotometry; the antioxidant activity test was carried out using the DPPH method. The total flavonoid content contained in honey ranged from 4.04-47,033 mg/100g, *A. cerana* honey (North Sumatra) produced the highest total flavonoid content, while *G. thorasica* (West Sumatra) honey produced the lowest total flavonoid content. The antioxidant activity (IC₅₀) contained in honey ranged from 3,589-64,271 mg/ml, *H. itama* honey (Sumsel) produced the highest antioxidant activity, while *G. thorasica* honey (West Sumatra) produced the lowest antioxidant activity. Flavonoid contents influence antioxidant activity that is equal to 25.27%, while 74.72% is influenced by other factors. Based on these data, the higher the flavonoid content, the stronger the antioxidant activity of honey.

Keywords: Antioxidant Activity, Flavonoid, Bee Species, Feed Source

ABSTRAK

Madu mengandung metabolit sekunder, antara lain senyawa flavonoid, yang memiliki aktivitas antioksidan. Keberagaman spesies lebah dan sumber tanaman pakan di Indonesia akan berdampak pada perbedaan komposisi metabolit sekunder pada madu, hal itu perlu adanya analisis mengenai pengaruh dari sumber pakan dan spesies lebah sehingga dapat meningkatkan kualitas madu yang dihasilkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan madu dari berbagai provinsi di Indonesia. Uji flavonoid menggunakan Spektrofotometri Uv-vis, pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Kadar total flavonoid yang terkandung dalam madu berkisar antara 4.04-47.033 mg/100g, madu *A. cerana* (Sumut) menghasilkan kadar total flavonoid tertinggi, sedangkan madu *G. thorasica* (Sumbar) menghasilkan kadar total flavonoid terendah. Aktivitas antioksidan (IC₅₀) yang terdapat dalam madu berkisar antara 3.589-64.271 mg/ml, madu *H. itama* (Sumsel) menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, sedangkan madu *G. thorasica* (Sumbar) menghasilkan aktivitas antioksidan terendah. Kadar flavonoid memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan yaitu sebesar 25,27%, sedangkan 74,72% dipengaruhi oleh faktor lain. Berdasarkan data tersebut, semakin tinggi kadar flavonoid, maka aktivitas antioksidan madu cenderung menguat.

Kata Kunci: Aktivitas Antioksidan, Flavonoid, Spesies Lebah, Sumber Pakan



PENDAHULUAN

Madu merupakan cairan alami yang dihasilkan oleh lebah madu yang dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu lebah bersengat (*Apis*) dan lebah tidak bersengat (*Trigona*). Madu yang dihasilkan lebah tanpa sengat memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan dengan madu lebah bersengat dalam hal rasa, warna, kekentalan, dan kadar air. Secara umum, madu lebah tanpa sengat memiliki warna yang lebih gelap dan rasa sedikit asam (Garedew, Schmolz, & Lamprecht, 2003).

Indonesia merupakan negara penghasil madu yang tersebar di berbagai daerah. Potensi Indonesia sebagai negara penghasil madu di dukung oleh sumber daya alam, terdapat 115 jenis tanaman yang dapat dijadikan sumber pakan lebah. (Novandra, A & Widnyana, 2013). Lebah madu membutuhkan sumber pakan berupa nektar yang terdapat pada tanaman. Nektar adalah merupakan cairan gula yang berasal dari sekresi kelenjar nektarium pada tanaman, nektar mengandung karbohidrat yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, laktosa, dan galaktosa, nektar yang dikumpulkan dari lebah madu dapat berasal dari kelenjar nektar floral yaitu nektar pada bunga dan ekstra floral yaitu nektar pada bagian tanaman lain (Gusneta & Nukmal, 2014). Selain nektar, tanaman menghasilkan resin dan pollen yang dibutuhkan oleh lebah.

Sumber pakan lebah berupa nektar yang terdapat pada tanaman atau tumbuhan dapat dipengaruhi oleh asal daerah dan letak geografis. Hal ini disebabkan tanaman atau tumbuhan yang terletak pada setiap lokasi akan berbeda dan mempengaruhi jenis tanaman atau tumbuhan yang tumbuh pada lingkungan tersebut, sehingga kandungan senyawa bioaktif termasuk flavonoid yang terdapat dalam madu dapat berbeda-beda dipengaruhi oleh sumber pakan dan asal daerah. Keterbatasan tanaman atau tumbuhan di lokasi peternakan akan berdampak pada sulitnya lebah madu dalam mencari pakan (nektar) yang dihasilkan tanaman atau tumbuhan dikarenakan setiap lebah memiliki jangkauan terbang yang berbeda.

Madu pada umumnya dikenal oleh masyarakat sebagai pemanis dan memiliki kandungan gula yang cukup tinggi, sehingga bagi penderita diabetes terdapat kekhawatiran untuk mengonsumsi madu, padahal madu memiliki kandungan gizi yang tinggi terutama pada senyawa polifenol termasuk flavonoid. Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogen, kemampuan mengkelat logam yang terlibat dalam proses pembentukan radikal, berada dalam bentuk aglikon dan pencegahan proses peroksidasi dengan mereduksi radikal alkoxyl dan peroxy (Pyrzynska & Biesaga, 2009). Aktivitas antioksidan madu bervariasi dan sangat tergantung pada sumber bunga, asal geografis, kondisi iklim, pemrosesan, penyimpanan dan penanganan. (Kumar & Bhowmik, 2010).

Penelitian ini penting dilakukan sebagai studi riset dan memberikan informasi kepada masyarakat mengenai madu lebah bersengat dan madu lebah tanpa sengat yang memiliki kandungan gizi tinggi kaitannya



dengan aktivitas antioksidan dan kadar total flavonoid, dan memberikan informasi kepada petani madu terkait tumbuhan atau tanaman yang dapat menghasilkan madu berkualitas atau madu dengan kandungan gizi tinggi sehingga petani madu dapat memilih tanaman yang akan dijadikan sumber pakan oleh lebah sehingga dapat menambah nilai jual dari madu lebah bersengat maupun lebah tanpa sengat.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu madu *Apis* (*A. cerana*, *A. dorsata*, *A. mellifera*) dan madu *Trigona* (*T. laevicep*, *T. biroi*, *H. itama*, *G. thorasica*, *W. incisa*, dan *T. fuscobalteata*) yang berasal dari berbagai provinsi di Indonesia, yaitu Bangka Belitung, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Barat, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, dan Sumatera Utara. Bahan-bahan untuk analisis yaitu DPPH (Sigma), etanol 70%, HCl (Merck), keping Zn, methanol (Merck), pereaksi AlCl_3 10% (Merck), pereaksi CH_3COOK 1 M (Merck), dan quercetin (Sigma).

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimental dengan metode analisis deskriptif dimana menggunakan delapan belas sampel madu dari berbagai provinsi dan spesies.

Tahapan Penelitian

Identifikasi Spesies Lebah dan Sumber Pakan Lebah

Tahap identifikasi dilakukan dengan metode wawancara secara online kepada petani madu sebagai pemasok sampel yang berasal dari Provinsi Bangka Belitung, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Barat, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, dan Sumatera Utara.

Pengujian Kadar Total Flavonoid (Meda, Lamien, Romito, Millogo, & Nacoulma, 2005)

Tahap pengujian kadar total flavonoid dimulai dari pembuatan pereaksi AlCl_3 dan CH_3COOK , kemudian pembuatan larutan induk, pembuatan kurva standar, setelah itu dilakukan pengujian kadar total flavonoid. Pada pembuatan pereaksi AlCl_3 digunakan konsentrasi yaitu 10% dengan cara AlCl_3 padat ditimbang sebanyak 2,5 g dan dilarutkan dengan aquades hingga volume 25 ml. Pereaksi CH_3COOK 1 M dibuat dengan cara CH_3COOK sebanyak 2,4538 g ditimbang dan dilarutkan dengan aquades hingga volume 25 ml.

Pembuatan larutan induk quercetin 200 ppm dilakukan dengan cara serbuk quercetin sebanyak 2 mg ditimbang dan dilarutkan dengan metanol hingga volume 10 ml, setelah itu dilakukan pembuatan kurva standar dengan cara larutan stock quercetin 200 ppm dipipet 0;0,1;0,1;0,3;0,4;0,5;0,6 ke dalam masing-masing labu ukur



10 ml, kemudian ditambahkan (3 ml metanol, 0,2 ml AlCl_3 10%, dan 0,2 ml CH_3COOK 1 M), setelah itu dihomogenkan sebentar selama 1 menit, ditepatkan dengan aquades hingga volume 10 ml, lalu, diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, dan absorbansi diukur ($\lambda=415$ nm)

Penetapan kadar total flavonoid dilakukan dengan cara sampel madu dipipet kedalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan (3 ml metanol, 0,2 ml AlCl_3 10%, dan 0,2 ml CH_3COOK 1 M), setelah itu dihomogenkan sebentar selama 1 menit, ditepatkan dengan aquades dalam hingga volume 10 ml, lalu, diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, dan absorbansi diukur ($\lambda=415$ nm). Hasil pengukuran total flavonoid yang di dapatkan dihitung sebagai mg QE/100 g madu.

Pengujian Aktivitas Antioksidan (Meda *et al.*, 2005)

Tahap pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH yang dimulai dari pembuatan larutan DPPH, pembuatan gradasi sampel dimana sampel dengan gradasi berwarna ungu hingga kuning dapat digunakan untuk pengujian antioksidan, kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pembuatan larutan DPPH 160 ppm dilakukan dengan cara serbuk DPPH 8 mg ditimbang menggunakan *beaker glass* yang dilapisi *aluminium foil* pada neraca analitik, kemudian di *stirrer* selama 20 menit, lalu ditepatkan dengan metanol kedalam labu ukur gelap 50 ml, dilapisi dengan *aluminium foil*, kemudian RDPPH di uji dengan cara 2 ml metanol dan 0,5 ml DPPH dimasukkan pada tabung reaksi 1, lalu dalam tabung reaksi 2 sebagai blanko ditambahkan 2,5 ml metanol, setelah itu divortex, diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, dan absorbansi diukur ($\lambda=517$ nm).

Prosedur pembuatan gradasi yaitu sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi 1,2,3, dan 4 masing-masing sebanyak 2 ml;1,5 ml;1 ml; dan 0,5 ml, kemudian metanol ditambahkan pada tabung reaksi masing-masing sebanyak 0 ml;0,5 ml; 1 ml; dan 1,5 ml, setelah itu 0,5 DPPH ditambahkan, divortex, lalu diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, dan absorbansi diukur ($\lambda=517$ nm).

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menambahkan sampel madu, metanol, dan DPPH pada tabung reaksi sesuai dengan Tabel pengenceran sebagai berikut:

Tabel 1. Pengenceran Pengujian Antioksidan

Ppm	Sampel			Blanko	
	Sampel	Metanol	DPPH	Sampel	Metanol
40	2	0	0,5	2	0,5
20	1	1	0,5	1	1,5



10	0,5	1,5	0,5	0,5	2
5	0,25	1,75	0,5	0,25	2,25
2,5	0,125	1,875	0,5	0,125	2,375

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan analisis deskriptif dengan menggunakan delapan belas sampel madu dari berbagai provinsi dan spesies. Data hasil analisis akan disajikan dalam bentuk grafik dan tabel.

Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini diperoleh dari hasil pengujian identifikasi spesies lebah dan sumber pakan, skrining senyawa flavonoid, pengujian kadar total flavonoid, dan pengujian aktivitas antioksidan yang disajikan dalam bentuk grafik dan tabel. Kadar flavonoid total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva baku quercetin. Aktivitas antioksidan madu dihitung dengan data persen inhibisi dengan berbagai konsentrasi kemudian dibuat kurva dengan menghubungkan konsentrasi sampel (sumbu X) terhadap % inhibisi (sumbu Y), sehingga diperoleh persamaan regresi linear yang dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa yang menunjukkan nilai IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Spesies Lebah dan Sumber Pakan

Hasil wawancara menunjukkan terdapat madu yang berasal dari 2 kelompok besar yaitu lebah bersengat (*Apis*) dan lebah tanpa sengat (*Trigona*). Jenis spesies lebah dapat dibedakan dengan melakukan identifikasi karakteristik morfologi dan morfometrik lebah. Karakteristik morfologi meliputi warna tubuh, thorax, mesoscutum, Mesoscutellum, propodeum, abdomen, warna sayap depan, hamuli, Rambut pada posterior hind tibia, dan Elliptical disc pada hind basitarsus, sedangkan karakteristik morfometrik meliputi lebar kepala, panjang kepala, lebar mata, lebar gena, malar space, lebar flagellomere ke-II, panjang tubuh, panjang sayap termasuk tegula, panjang sayap, panjang antara m-cu dan basal marginal cell, panjang hind tibia, lebar hind tibia, panjang hind basitarsus, dan lebar hind basitarsus (Lamerkabel *et al.*, 2021). Hasil identifikasi spesies lebah di Indonesia tertera pada Tabel 2.

Kedua jenis lebah menghasilkan madu yang tersebar di beberapa provinsi di Indonesia dengan spesies yang berbeda-beda. Perbedaan asal daerah atau provinsi berpengaruh terhadap perbedaan letak geografis. Ketinggian suatu daerah memengaruhi suhu dan kelembaban lingkungan, semakin tinggi letak geografis suatu daerah maka suhu lingkungan akan semakin turun. Suhu dan kelembaban lingkungan berpengaruh terhadap



aktivitas pencarian makanan dan keanekaragaman tanaman sumber pakan lebah, karena setiap jenis tumbuhan membutuhkan kondisi lingkungan tertentu untuk dapat tumbuh (Ritung, Wahyunto, Agus, & Hidayat, 2007).

Tabel 2. Hasil Identifikasi Spesies Lebah

No	Nama	Provinsi
1	<i>A. cerana</i>	Jawa Barat
2	<i>A. cerana</i>	Sumatera Utara
3	<i>A. dorsata</i>	Nusa Tenggara Timur
4	<i>A. dorsata</i>	Bangka Belitung
5	<i>A. melifera</i>	Jawa Tengah
6	<i>A. melifera</i>	Jawa Barat
7	<i>T. laevicep</i>	Jawa Tengah
8	<i>T. laevicep</i>	Banten
9	<i>T. biroi</i>	Sulawesi Tenggara
10	<i>T. biroi</i>	Sulawesi Selatan
11	<i>H. itama</i>	Kalimantan Barat
12	<i>H. itama</i>	Sumatera Selatan
13	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Utara
14	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Barat
15	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Selatan
16	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Tengah
17	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat
18	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat (Lombok Barat)

Identifikasi Sumber Pakan

Ketersediaan dan keanekaragaman tanaman sumber pakan berpengaruh terhadap produksi madu. Menurut Martos, *et al* (2000), senyawa bioaktif dapat ditransfer dari tanaman ke nektar dan selanjutnya di olah lebah untuk menghasilkan madu dan madu yang dikumpulkan dari berbagai sumber bunga akan menghasilkan kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda. Begitu pula dengan jenis tanaman atau tumbuhan yang sama tetapi berasal dari provinsi yang berbeda akan menghasilkan senyawa kimia yang berbeda (Kaškonienė & Venskutonis, 2010). Berikut hasil identifikasi sumber pakan:

Tabel 3. Hasil Identifikasi Sumber Pakan

No	Sampel	Provinsi	Sumber Pakan (Nektar)
1	<i>A. cerana</i>	Jawa Barat	Kawung, Kelapa, Air Mata Pengantin, Mara, Kibanen, Serengengi, batavia, Kersen, Nyamplung, Taiwan Biuty, Akasia Mangium, Kaliandra Merah, Santos temon, Jeruk calipornia, Dombea
2	<i>A. cerana</i>	Sumatera Utara	Kaliandra Merah, Kelapa, Jambu Air, Aren, Torop, Coklat, Sidagori, Pinang, Mommon Mommon,
3	<i>A. dorsata</i>	Nusa Tenggara Timur	Mete, Kesambi, Mangga, Kawung Sumber Resin: Jati



4	<i>A. dorsata</i>	Bangka Belitung	Rempudung
5	<i>A. melifera</i>	Jawa Tengah	Randu
6	<i>A. melifera</i> <i>T. laevicep</i>	Jawa Barat	Rambutan Mahoni, Durian, Ubi Kayu, Kelapa, Cabe Rawit, Pisang, Melinjo, Terong, Pepaya, Rambutan, Mangga, Jeruk, Cokelat, Jambu Air, Nangka, Belimbing, Jambu Biji, Bidara, Bunga Matahari, Jambu Air, Jarak Pagar, Karet, Kemlandingan, Kesemek, Kopi, Krokot, Labu Siam, Kelengkeng,
7		Jawa Tengah	Markisa, Nanas, Petai, Petai Cina, Putri Malu, Rambutan, Rumput-Rumputan, Salam, Sengon, Singkong, Vanili, Waluh, Kaliandra Pagoda, Kaliandra Putih, Kaliandra Lusiana, Kayu Putih, Xanthostemon, Air Mata Pengantin, Kemuning, Akasia Golden, Hujan Mas, Kumis, Kucing, Johar, Albasia, Jengger Ayam, Seribu Bintang, Aster, Kenikir
8	<i>T. laevicep</i>	Banten	Kaung, Kelapa, Akasia Mangium, Karet, Mahoni, Albasia, Singkong, Pisang, Sembung, Air Mata Pengantin, Jeruk, Laja, Harendong, Bunga Bambu, Manggis
9	<i>T. biroi</i>	Sulawesi Tenggara	Rambutan, Durian, Kaliandra, Xanthostemon, Kelapa, jeruk nipis, Mangga, Kedondong, Kelengkeng, Jambu air Sumber Resin: Annaja, Kaju londong, Mangga, Paili, Cempaka, Durian, Poringan, Sempur
10	<i>T. biroi</i>	Sulawesi Selatan	Kopi, Kakao, Annaja, Kaju londong, Mangga, Paili, Cempaka, Durian, Rambutan, Jambu Air, Jambu Bol, Kaliandra, Poringan, Jabon, Sempur
11	<i>H. itama</i>	Kalimantan Barat	Senggani, Akasia, Bengkirai, Penage, Bakau, Kemuning, Jengkol, Nyireh, Kweni, Leban, Manggis, Campenai, Rambai, Balik Angin Sumber Resin: Akasia, Penage, Bakau, Nyireh, Kweni, Manggis
12	<i>H. itama</i>	Sumatera Selatan	Karet, senggani, mahang, belukar (campur)
13	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Utara	mommon mommon, Kaliandra merah, Kelapa, jambu air, aren, torop, coklat, sidagori, pinang
14	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Barat	Pinang, Johar, Kaliandra merah, Karet, Durian, Kelapa, Matoa, Semak semak Sumber Resin: Karet, Manggis, Kweni, Ambacang, Mahoni, Mangga
15	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Selatan	Epoli, Kacang Hutan Sulawesi, Jongi
16	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Tengah	Epoli, Kacang Hutan Sulawesi, Jongi
17	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat	Kelapa, Mangga, Jambu Mete, Mangrove, Xantos Temon, Bunga Air Mata Pengantin, Kelengkeng, Avokado, Kedondong, Akasia, Pisang, Jati Sumber Resin: Mangga, Jambu Mete
18	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat (Lombok Barat)	Kelapa, Mangga, Jambu Mete, Mangrove, Xantos Temon, Bunga Air Mata Pengantin, Kelengkeng, Avokado, Kedondong, Akasia, Pisang, Jati Sumber Resin: Mangga, Jambu Mete



Pada umumnya, hampir semua tanaman baik berupa tanaman berbunga, tanaman obat, maupun tanaman buah dapat dijadikan pakan lebah berupa nektar dan resin. Setiap jenis tanaman memiliki perbedaan waktu dan pola pembungaan, hal ini dipengaruhi oleh ukuran bunga dan spesies tanaman, sehingga komposisi nektar yang dihasilkan akan berbeda juga (Agussalim *et al*, 2017). Berdasarkan hasil pengujian, madu *A. cerana* (Sumatera Utara) merupakan madu yang mempunyai kadar total senyawa flavonoid paling tinggi, dengan tanaman sumber pakan yaitu Kaliandra merah, Kelapa, jambu air, aren, torop (karo), coklat, sidaguri, pinang, Mommon mommo. Madu *H. itama* (Sumatera Selatan) mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi dengan tanaman sumber pakan yaitu Karet, Senggani, Mahang, dan Belukar Sedangkan madu *G. thorasica* (Sumatera Barat) merupakan yang paling terendah mengandung senyawa flavonoid maupun antioksidan dengan tanaman sumber pakan yaitu Pinang, Johar, Kaliandra merah, Karet, Durian, Kelapa, Matoa, Semak semak.

Pengujian Kadar Total Flavonoid

Tahap pertama dalam pengujian total flavonoid adalah pembuatan larutan standar. Larutan standar yang digunakan dalam pengukuran kurva yaitu kuersetin. Dari hasil pengujian kurva kalibrasi diperoleh persamaan garis regresi $y = 0.0656x - 0.0169$ dengan nilai $R^2 = 0.998$. Nilai koefisien r yang mendekati satu menunjukkan hubungan antara dua variabel yang linear dan berkorelasi baik antara kadar kuersetin dan absorbansi. Pengumpulan data dilakukan dari pengukuran nilai absorbansi pada larutan standar, kemudian selanjutnya akan dihitung kadar total senyawa flavonoid menggunakan data hasil pengukuran larutan standar dan absorbansi sampel. Pengukuran kadar total flavonoid dilakukan dengan pengulangan sebanyak 2 kali dan diambil rata-ratanya seperti yang disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Total Flavonoid

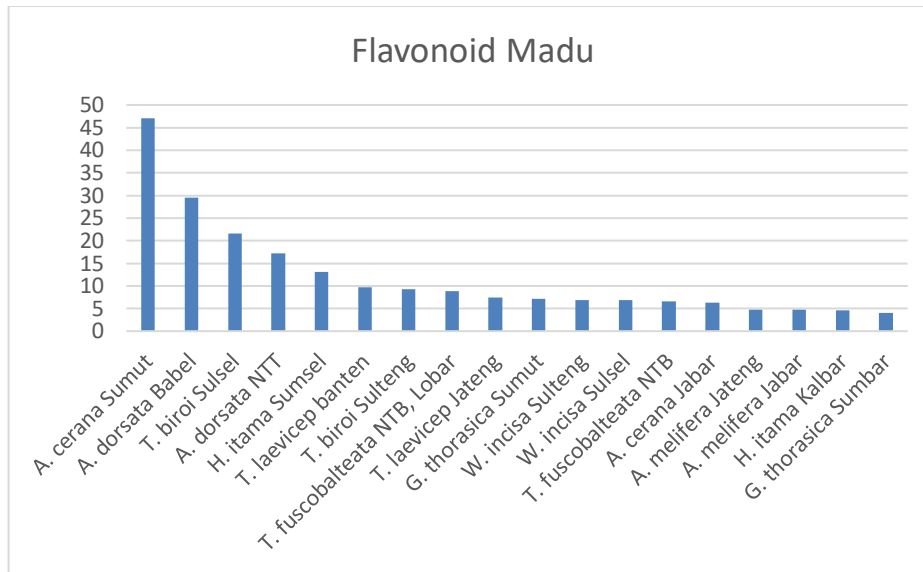
No	Nama	Provinsi	\bar{x} Total Flavonoid (mg/100g) ± SD
1	<i>A. cerana</i>	Jawa Barat	6.283 ± 0.115
2	<i>A. cerana</i>	Sumatera Utara	47.033 ± 0.154
3	<i>A. dorsata</i>	Nusa Tenggara Timur	17.247 ± 0.077
4	<i>A. dorsata</i>	Bangka Belitung	29.486 ± 0.154
5	<i>A. mellifera</i>	Jawa Tengah	4.785 ± 0.077
6	<i>A. mellifera</i>	Jawa Barat	4.72 ± 0.096
7	<i>T. laevicep</i>	Jawa Tengah	7.426 ± 0.038
8	<i>T. laevicep</i>	Banten	9.713 ± 0.115
9	<i>T. biroi</i>	Sulawesi Tenggara	9.233 ± 0.077
10	<i>T. biroi</i>	Sulawesi Selatan	21.537 ± 0.128
11	<i>H. itama</i>	Kalimantan Barat	4.602 ± 0.257



12	<i>H. itama</i>	Sumatera Selatan	13.142 ± 0.808
13	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Utara	7.208 ± 0.038
14	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Barat	4.04 ± 0.019
15	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Selatan	6.827 ± 0.038
16	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Tengah	6.936 ± 0.115
17	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat	6.609 ± 0.038
18	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat (Lombok Barat)	8.787 ± 0.269

Berdasarkan Tabel 4, dapat disimpulkan bahwa madu yang memiliki kadar total flavonoid tertinggi yaitu *A. cerana* (Sumatera Utara) sebesar 47.033 ± 0.154 mg/100 g, sedangkan madu yang memiliki kadar total flavonoid terendah yaitu *G. thorasica* (Sumatera Barat) sebesar 4.04 ± 0.019 mg/100g. Madu yang dihasilkan oleh *A. cerana* yang berasal dari Sumatera Utara memiliki kadar flavonoid yang tinggi disebabkan oleh karakteristik lebah, sumber pakan, dan geografis. Lebah *A. cerana* atau yang lebih dikenal sebagai lebah lokal memiliki daya adaptasi dan daya ketahanan tubuh yang tinggi terhadap kondisi geografis di Indonesia, sehingga masyarakat Sumatera Utara lebih banyak membudidayakan lebah *A. cerana*, selain itu madu yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan jenis lebah lainnya. Lebah jenis ini secara umum cenderung mencari makan lebih awal dibandingkan jenis lebah lainnya karena dapat bertahan pada suhu dingin (Sitompul, Siregar, Ritonga, Dahelmi, & Roesma, 2017).

Karakteristik lebah seperti bentuk tubuh dan jangkauan terbang berpengaruh terhadap pencarian sumber pakan yang berasal dari sumber bunga tanaman. Berdasarkan penelitian, tanaman yang dijadikan sebagai sumber pakan *A. cerana* (Sumatera Utara) merupakan tanaman utama penghasil nektar yang dapat memenuhi kebutuhan pakan lebah seperti Kaliandra, Kelapa, dan Cokelat serta tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber metabolit sekunder seperti Kaliandra, Torop, Sidaguri, dan Pinang. Sumber nektar yang berasal dari tanaman ini selain mempengaruhi komposisi kimia madu juga berpengaruh terhadap kekentalan pada madu. Kekentalan madu *A. cerana* yaitu terbilang tinggi, tingginya kekentalan disebabkan oleh tingkat kadar air yang rendah, dimana madu yang memiliki kadar air yang lebih rendah memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan madu yang memiliki kadar air yang tinggi, hal ini disebabkan madu yang memiliki kadar air tinggi dapat mempercepat terjadinya proses fermentasi sehingga hal ini akan mempercepat kerusakan komponen dalam madu (A. Apriantini, Y. C. Endrawati, & Z. Astarini, 2022). Berikut histogram flavonoid pada madu tertinggi hingga terendah:



Gambar 1. Histogram Flavonoid Madu Tertinggi Hingga Terendah

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian Aktivitas Antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, tahap pertama dalam pengujian aktivitas antioksidan yaitu pembuatan gradasi sampel terlebih dahulu sehingga setiap sampel madu yang akan diuji memiliki variasi konsentrasi. Pengujian aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ yang merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH, semakin kecil nilai IC₅₀ maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidan. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil pengujian, madu yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi yaitu *H. itama* yang berasal dari Sumatera Selatan yaitu sebesar 3.589 ± 0.031 mg/ml, sedangkan madu yang memiliki aktivitas antioksidan paling rendah yaitu *G. thorasica* yang berasal dari Sumatera Barat yaitu sebesar 64.271 ± 0.229 mg/ml. Suatu senyawa dapat disebut sebagai agen antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 0,05 mg/ml, antioksidan kuat apabila nilai IC₅₀ 0,05- 0,10 mg/ml, antioksidan sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 0,10-0,15 mg/ml, dan antioksidan lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 0,15-0,20 mg/ml (Molyneux P, 2004).

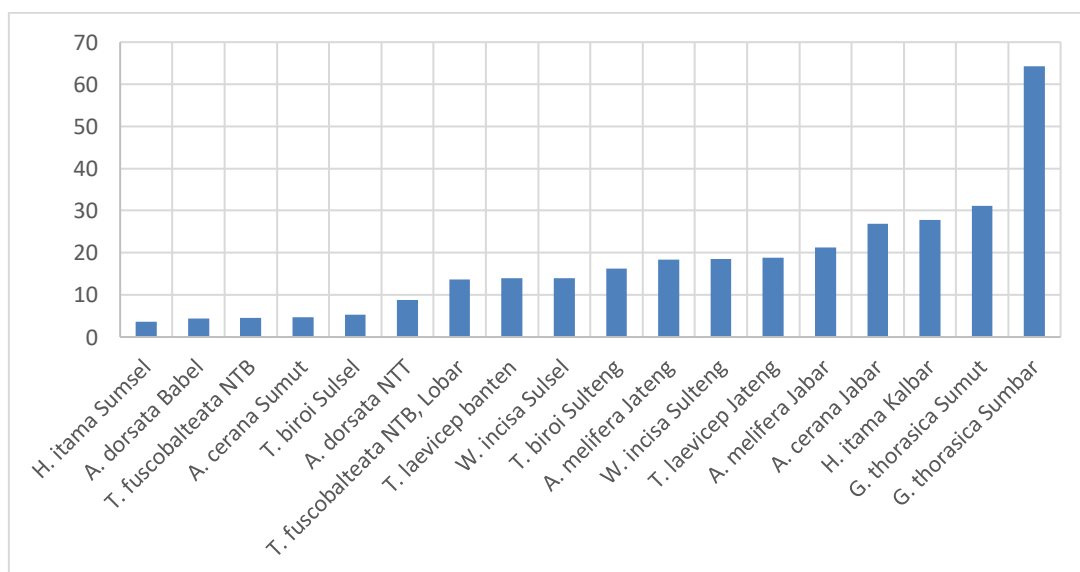
Tabel 5. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan

No	Nama	Provinsi	IC ₅₀
1	<i>A. cerana</i>	Jawa Barat	26.818 ± 0.400
2	<i>A. cerana</i>	Sumatera Utara	4.683 ± 0.147
3	<i>A. dorsata</i>	Nusa Tenggara Timur	8.794 ± 0.206
4	<i>A. dorsata</i>	Bangka Belitung	4.332 ± 0.053
5	<i>A. mellifera</i>	Jawa Tengah	18.349 ± 0.663



6	<i>A. melifera</i>	Jawa Barat	21.231 ± 0.090
7	<i>T. laevicep</i>	Jawa Tengah	18.887 ± 0.016
8	<i>T. laevicep</i>	Banten	14.014 ± 0.072
9	<i>T. biroii</i>	Sulawesi Tenggara	16.276 ± 0.383
10	<i>T. biroii</i>	Sulawesi Selatan	5.225 ± 0.005
11	<i>H. itama</i>	Kalimantan Barat	27.756 ± 0.172
12	<i>H. itama</i>	Sumatera Selatan	3.589 ± 0.031
13	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Utara	31.194 ± 1.036
14	<i>G. thorasica</i>	Sumatera Barat	64.271 ± 0.229
15	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Selatan	14.021 ± 1.185
16	<i>W. incisa</i>	Sulawesi Tengah	18.569 ± 0.034
17	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat	4.55 ± 0.076
18	<i>T. fuscobalteata</i>	Nusa Tenggara Barat (Lombok Barat)	13.693 ± 0.213

Madu yang dihasilkan oleh *H. itama* yang berasal dari Sumatera Selatan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi ditandai dengan nilai IC₅₀ yang rendah yaitu 3.589 mg/ml, tingginya aktivitas antioksidan disebabkan oleh spesies tanaman, nektar bunga, faktor lingkungan dan produk metabolisme asal lebah. Tanaman yang menjadi sumber pakan *H. itama* (Sumatera Selatan) yaitu Karet, Senggani, Mahang, dan Belukar (Campur). Tanaman tersebut umumnya tumbuh alami dan subur pada Provinsi Sumatera, pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh faktor kondisi tanah. Tanah dengan kondisi subur berdampak pada tercukupinya unsur-unsur mineral dan air yang dibutuhkan tanaman sehingga pertumbuhan tidak terhambat. Berikut histogram madu dengan aktivitas antioksidan tertinggi hingga terendah.



Gambar 2. Histogram Madu dengan Aktivitas Antioksidan Tertinggi hingga Terendah



Hubungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam suatu sampel bergantung pada jumlah dan lokasi gugus-OH yang berperan dalam penetralan radikal bebas, kemampuan flavonoid dalam menetralkan radikal bebas berhubungan dengan kemampuan dalam mendonorkan elektron. Hal ini yang dapat menyebabkan terdapatnya hubungan antara kandungan total flavonoid dengan aktivitas antioksidan (Apak *et al.*, 2007). Sehingga, menurut (Ustadi, Radiati, & Thohari, 2017) semakin tinggi kadar total flavonoid maka akan semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam mendonorkan elektron untuk menekan radikal bebas (Nilai IC₅₀ semakin rendah). Namun, menurut penelitian Rafi *et al.*, (2012) menyatakan bahwa kandungan flavonoid tidak selalu berkorelasi positif dengan aktivitas antioksidan, hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolik lain seperti fenolik, alkaloid, tanin, saponin, dan antosianin sehingga dapat terjadi kemungkinan bahwa flavonoid dalam suatu sampel bukan merupakan penyumbang terbesar terhadap aktivitas antioksidan. Hasil data flavonoid dan aktivitas antioksidan yang dapat dilihat pada Tabel 6.

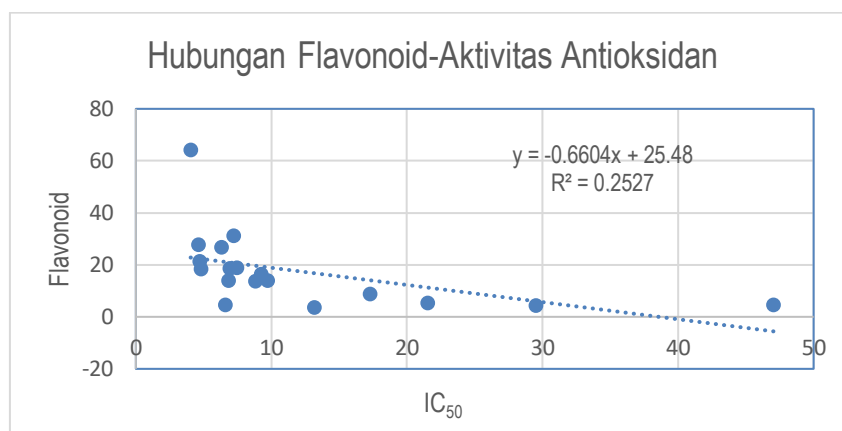
Berdasarkan data tersebut, semakin tinggi kadar flavonoid, maka aktivitas antioksidan madu cenderung menguat. Madu *A. cerana* dan *A. melifera* yang berasal dari provinsi yang sama yaitu Jawa Barat, madu *A. melifera* dan *T. laevicep* yang berasal dari Jawa Tengah memiliki kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang berbeda-beda namun perbedaan yang dihasilkan tidak jauh atau tidak berbeda signifikan, sedangkan madu *W. incisa* dan *T. biroi* yang berasal dari Sulawesi Selatan dan madu *G. thorasica* dan *A. cerana* yang berasal dari Sumatera Utara memiliki perbedaan kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang cukup signifikan. Hubungan antara kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dilakukan uji korelasi.

Tabel 6. Hasil Data Flavonoid-Aktivitas Antioksidan

No.	Sampel	Flavonoid	IC ₅₀
1	<i>A. cerana Jabar</i>	6.283 ± 0.115	26.818 ± 0.400
2	<i>A. cerana Sumut</i>	47.033 ± 0.154	4.683 ± 0.147
3	<i>A. dorsata NTT</i>	17.247 ± 0.077	8.794 ± 0.206
4	<i>A. dorsata Babel</i>	29.486 ± 0.154	4.332 ± 0.053
5	<i>A. melifera Jateng</i>	4.785 ± 0.077	18.349 ± 0.663
6	<i>A. melifera Jabar</i>	4.72 ± 0.096	21.231 ± 0.090
7	<i>T. laevicep Jateng</i>	7.426 ± 0.038	18.887 ± 0.016
8	<i>T. laevicep banten</i>	9.713 ± 0.115	14.014 ± 0.072
9	<i>T. biroi Sulteng</i>	9.233 ± 0.077	16.276 ± 0.383
10	<i>T. biroi Sulsel</i>	21.537 ± 0.128	5.225 ± 0.005
11	<i>H. itama Kalbar</i>	4.602 ± 0.257	27.756 ± 0.172



12	<i>H. itama</i> Sumsel	13.142 ± 0.808	3.589 ± 0.031
13	<i>G. thorasica</i> Sumut	7.208 ± 0.038	31.194 ± 1.036
14	<i>G. thorasica</i> Sumbar	4.04 ± 0.019	64.271 ± 0.229
15	<i>W. incisa</i> Sulsel	6.827 ± 0.038	14.021 ± 1.185
16	<i>W. incisa</i> Sulteng	6.936 ± 0.115	18.569 ± 0.034
17	<i>T. fuscobalteata</i> NTB	6.609 ± 0.038	4.55 ± 0.076
18	<i>T. fuscobalteata</i> NTB (Lombok Barat)	8.787 ± 0.269	13.693 ± 0.213



Gambar 3. Grafik Hubungan Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan

Hasil analisis regresi linier pada delapan belas sampel madu yaitu di dapat nilai multiple R sebesar 0,503 nilai ini menunjukkan nilai korelasi antara kadar total flavonoid dengan aktivitas antiodan (IC_{50}), kekuatan kategori ini berada dalam kategori sedang. Nilai R Square yaitu sebesar 0,2527 hal ini berarti bahwa kontribusi atau besarnya pengaruh yang diberikan oleh flavonoid terhadap aktivitas antioksidan yaitu sebesar 25,27%, sedangkan 74,72% dipengaruhi oleh faktor lain seperti senyawa fenol, alkaloid, dan senyawa metabolik sekunder lainnya. Pada analisis anova, di dapatkan F hitung yaitu 5,411 dengan nilai signifikansi p-value sebesar 0,03. Berdasarkan literatur, jika p-value <0,05 maka artinya variabel (x) yaitu flavonoid memiliki pengaruh terhadap variabel (y) yaitu antioksidan dalam taraf kepercayaan 95%. Dari data diatas, persamaan regresi yang diperoleh yaitu $y = 25,480 - 0,660 x$.

Hasil penelitian berdasarkan jenis spesies lebah diketahui bahwa madu yang berasal dari spesies yang sama namun berbeda wilayah menunjukkan hasil kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tidak jauh berbeda atau tidak signifikan terkecuali untuk madu *A.cerana*, *H. itama*, *T. biroii* dan *A. dorsata* yang memiliki



perbedaan cukup signifikan. Perbedaan komposisi ini dapat dipengaruhi oleh karakteristik setiap lebah madu seperti jangkauan terbang yang berbeda untuk mencari sumber pakan, kemampuan memproduksi madu, dan ketersediaan sumber pakan pada tanaman. Dari data hasil sumber pakan, diketahui jenis tanaman umum yang digunakan untuk pakan lebah yaitu Akasia, Rambutan, Kelapa, Kaliandra, Mangga, dan Jambu. Tanaman tersebut diketahui merupakan jenis tanaman berbuah.

Sumber nektar yang diperoleh dari jenis tanaman yang sama namun berbeda daerah akan menghasilkan kadar total flavonoid dan antioksidan pada madu yang berbeda pula, seperti madu *A. cerana* yang berasal dari Jawa barat dan Sumatera Utara, *T. laevicep* yang berasal dari Jawa Tengah dan Banten, *T. biro* yang berasal dari Sulawesi Tenggara, *G. thorasica* yang berasal dari Sumatera Utara dan Sumatera Barat, dan *T. fuscobalteata* yang berasal dari Nusa Tenggara Barat memiliki tanaman kelapa sebagai sumber pakan lebah namun menghasilkan kadar total flavonoid dan antioksidan yang berbeda. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kondisi tanah, iklim, suhu, dan lingkungan. Banyaknya jenis tanaman tidak mempengaruhi kadar total senyawa flavonoid maupun antioksidan jika tanaman tersebut bersifat musiman yang artinya tanaman musiman tidak dapat memenuhi kebutuhan sumber pakan lebah.

KESIMPULAN

Jenis tanaman sebagai sumber nektar yang umum digunakan untuk pakan lebah yaitu Akasia, Rambutan, Kelapa, Kaliandra, Mangga, dan Jambu. Sumber nektar yang diperoleh dari tanaman yang tumbuh pada setiap lokasi peternakan mempengaruhi kadar flavonoid. Kadar flavonoid memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan yaitu sebesar 25,27%, sedangkan 74,72% dipengaruhi oleh faktor lain. Kadar total flavonoid yang terkandung dalam madu berkisar antara 4.04-47.033 mg/100g, madu *A. cerana* (Sumut) menghasilkan kadar total flavonoid tertinggi, sedangkan madu *G. thorasica* (Sumbar) menghasilkan kadar total flavonoid terendah. Aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang terdapat dalam madu berkisar antara 3.589-64.271 mg/ml, madu *H. itama* (Sumsel) menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, sedangkan madu *G. thorasica* (Sumbar) menghasilkan aktivitas antioksidan terendah.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Apriantini, Y. C. Endrawati, & Z. Astarini. 2022. Pengaruh Lama Waktu Penurunan Kadar Air terhadap Kualitas Fisikokimia Madu Kapuk dan Madu Rambutan. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 10(2), 98–104. <https://doi.org/10.29244/jipthp.10.2.98-104>
- Agussalim, A., Agus, A., Umami, N., & Budisatria, I. G. S. 2017. Variation of Honeybees Forages As Source of Nectar and Pollen Based on Altitude in Yogyakarta. *Buletin Peternakan*, 41(4), 448. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v41i4.13593>



- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Özyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547. <https://doi.org/10.3390/12071496>
- Garedew, A., Schmolz, E., & Lamprecht, I. 2003. The antimicrobial activity of honey of the stingless bee *Trigona* spp. *Journal of Apicultural Science*, 47 (1).
- Gusneta, D., & Nukmal, N. 2014. Kandungan glukosa nektar dan madu sebagai sumber pakan lebah pada lokasi yang berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Lampung 24 Mei 2014*, 1(2), 299–307.
- Kaškonienė, V., & Venskutonis, P. R. 2010. Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 620–634. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00130.x>
- Kumar, K. S., & Bhowmik, D. 2010. Medicinal uses and health benefits of Honey: An overview. *J Chem Pharm Res*, 2(1), 385–395. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar>
- Lamerkabel, J. S. A., Siahaya, V. G., Saepuloh, W., Latriyanto, A., Junus, M., Erwan, E., ... Masyithoh, D. 2021. Karakteristik Morfologi dan Morfometrik Lebah Madu Tak Bersengat (Apidae; Melliponinae) pada Koloni di Daerah Pesisir Pulau Ambon. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 17(1), 28–35. <https://doi.org/10.30598/jbdp.2021.17.1.28>
- Martos, I., Ferreres, F., & Tomás-Barberán, F. A. 2000. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1498–1502. <https://doi.org/10.1021/jf991166q>
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Molyneux P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(May), 211–219.
- Novandra, A & Widnyana, I. 2013. Peluang Pasar Produk Perlebahan Indonesia. *Balai Penelitian Teknologi Hasil Hutan Bukan Kayu*.
- Pyrzynska, K., & Biesaga, M. 2009. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893–902. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.03.015>
- Rafi, M., Widyastuti, N., Suradikusumah, E., & Darusman, L. K. 2012. Aktivitas antioksidan, kadar flavonoid dan flavonoid dari enam tumbuhan obat Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(3), 159–165.
- Ritung, S., Wahyunto, Agus, F., & Hidayat, H. 2007. Panduan Evaluasi Kesesuaian Lahan. *Balai Penelitian Tanah Dan World Agroforestry Centre*, 48. Retrieved from www.worldagroforestrycentre.org/sea.
- Sitompul, A. F., Siregar, E. H., Ritonga, Y., Dahelmi, D., & Roesma, D. I. 2017. Identifikasi erangga Penyerbuk Pada Pertanaman Kopi (*Coffea arabica* L.) Di Kabupaten Dairi, Sumatera Utara. *Jurnal Biosains*, 3(2), 90. <https://doi.org/10.24114/jbio.v3i2.7537>
- Ustadi, U., Radiati, L., & Thohari, I. 2017. Bioactive Components of Rubber Tree Honey (*Hevea Brasiliensis*) and Calliandra (*Calliandra calothyrsus*) and Kapok Honey (*Ceiba Pentandra*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak*, 12(2), 97–102. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2017.012.02.6>