

KAJIAN KADAR FLAVONOID, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN MADU MONOFLORA

Ichda Chayati¹⁾, Isnatin Miladiyah²⁾

¹Fakultas Teknik, Universitas Negeri Yogyakarta (penulis 1)
email: ichda_chayati@uny.ac.id

²Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia (penulis 2)
email: isnatin@uii.ac.id

Abstract

This study aims to determine: 1) the levels of total flavonoids, 2) antioxidant activity, 3) antioxidant capacity, 4) relations levels of total flavonoids with antioxidant activity, 5) the relationship of the levels of total flavonoids with antioxidant capacity, 6) relationships antioxidant activity with antioxidant capacity of several types of monofloral honey. Raw material honeys were obtained from beekeepers in Yogyakarta and Central Java. Analysis of total flavonoid levels according to the method of Al et al (2009) and analysis of antioxidant activity using DPPH (diphenyl-1-picryl hydrazyl) by (Hussein dkk, 2011), and the antioxidant capacity FRAP methods performed according to the method (Aljadi & Kamaruddin, 2004). Data was analyzed using ANOVA followed by Duncan Multiple (Duncan's Multiple Range Test) to determine the differences between samples. Relationship total flavonoid content and antioxidant activity, total flavonoid content and antioxidant capacity, and between antioxidant activity and antioxidant capacity of monofloral honey were calculated by simple regression to determine the correlation. The results showed that: 1) The total flavonoid content of nectar rambutan, longan, coffee, kapok, and kaliandra are respectively 3.80; 4.94; 23.94; 12.92 and 33.46 mg quercetin / 100 g of honey, 2) the antioxidant activity of honey flowers rambutan, longan, coffee, kapok, and kaliandra are respectively 11.9; 8.73; 5.56; 13.1 and 48.0%, 3) the antioxidant capacity of honey flowers rambutan, longan, coffee, kapok, and kaliandra respectively in 1246, 1298, 1807, 1614, and 5386 $\mu\text{M Fe (II)}$, 4) there is a relationship between levels of total flavonoids and antioxidant activity of honey flowers rambutan, longan, coffee, kapok, and kaliandra with a score correlation of 0.922, 5) there is a relationship between the levels of total flavonoids and antioxidant capacity nectar rambutan, longan, coffee, kapok, and kaliandra with a score correlation amounted to 0.931, 6) there is a relationship between antioxidant activity and antioxidant capacity nectar rambutan, longan, coffee, kapok, and kaliandra with a score of correlation of 0.996.

Keywords: Monofloral honey, total flavonoid, antioxidant activity, antioxidant capacity

1. PENDAHULUAN

Spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* atau ROS) dan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan parah pada sel-sel normal tubuh. Kerusakan ini dapat terjadi pada DNA, protein, dan makromolekul lainnya. Kerusakan ini merupakan awal mula dari berbagai macam penyakit, terutama penyakit jantung dan kanker. Ada banyak penelitian yang membuktikan bahwa karena penyakit ini dimediasi oleh stres oksidatif dan mengacaukan keseimbangan antara pro-oksidan dan faktor antioksidan, maka antioksidan dapat memainkan peran penting dalam mencegah atau memperlambat perkembangan kondisi ini. Beberapa penyakit penting yang disebabkan karena stres oksidatif adalah penyakit jantung, kanker,

penyakit paru-paru, penyakit syaraf, katarak, dan penyakit lain misalnya diabetes, rematik, diasosiasikan dengan rendahnya level antioksidan dalam darah (Cashin-Garbut dan Mandal, 2012). Salah satu cara mengatasi permasalahan kesehatan tersebut adalah mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan yang tinggi. Salah satu pangan yang tinggi antioksidannya adalah madu.

Madu adalah bahan yang mengandung antioksidan tinggi. Sifat antioksidan dalam madu disebabkan oleh berbagai macam komponen yang ada di dalam madu, diantaranya adalah komponen flavonoid, fenolat, vitamin C, asam amino, enzim, katalase, dan lain-lain (Ensminger dkk, 1995). Dengan banyaknya komponen dalam madu yang memberikan sifat antioksidan tersebut,

flavonoid adalah salah satu yang paling banyak diteliti. Flavonoid dalam madu sendiri banyak sekali unturnya dan sangat dipengaruhi oleh geografis, sumber nektar bunga, iklim, proses pengolahan, dan lain-lain (Estevinho, dkk. 2008). Oleh karena itu, madu yang diambil dari sumber bunga berbeda akan memberikan flavonoid berbeda, demikian juga madu dari bunga yang sama tetapi dari daerah berbeda bisa memberikan kadar flavonoid berbeda pula. Namun sampai saat ini, belum ada publikasi tentang flavonoid madu dari Indonesia.

Seiring dengan perubahan gaya hidup, orang banyak mencari makanan dan minuman yang memberikan kesehatan bagi tubuh, tidak hanya sekedar mengenyangkan dan menghilangkan haus. Hal ini mendorong perkembangan makanan dan minuman fungsional secara pesat. Banyak sekali minuman fungsional yang beredar, salah satunya adalah minuman fungsional yang mengandung antioksidan.

Selama ini belum ditemukan minuman fungsional tinggi antioksidan yang dibuat dari ekstrak flavonoid madu Indonesia, sehingga penelitian ini diperlukan untuk mengetahui jenis madu yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi, kaitannya dengan kandungan flavonoid di dalam madu, dan cara mengekstraksi kandungan flavonoid tersebut sehingga didapat ekstrak flavonoid madu berbentuk cair dan bubuk.

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui madu monoflora terbaik dari komponen dan aktivitas antioksidannya memproduksi ekstrak flavonoid dari madu monoflora sebagai ingredient minuman fungsional tinggi antioksidan.

Untuk mencapai target tersebut diperlukan beberapa tahap penelitian dengan tujuan spesifik sebagai berikut :

1. Mengetahui kadar flavonoid total madu monoflora
2. Mengetahui aktivitas antioksidan metode DPPH dari madu monoflora
3. Mengetahui kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
4. Mengetahui hubungan kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan metode DPPH dari madu monoflora
5. Mengetahui hubungan kadar flavonoid total dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
6. Mengetahui hubungan aktivitas antioksidan metode DPPH dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
7. Mengetahui proses pembuatan ekstrak flavonoid dari madu monoflora

2. METODE PENELITIAN

Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan dua laboratorium, yaitu :Lab. Lab. Kimia Bahan Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan Lab. Biologi Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia.

Pembelian Madu dan Bahan Kimia

Madu yang digunakan adalah madu kelengkeng, madu rambutan, madu randu, dan madu kaliandra. Madu bunga kelengkeng diperoleh dari Ambarawa, madu rambutan dari Magelang, madu kaliandra dari Yogyakarta, madu randu dari Pati, berasal dari 2 kali panen (2 batch). Madu dikemas dalam botol bening, ditutup kertas koran untuk menghindari sinar matahari. Madu disimpan di suhu ruang sampai saat digunakan. Semua bahan kimia *analytic grade* dengan merk Merck dan BDH. Amberlite XAD-2 dari Supelco, sedangkan TPTZ, DPPH, asam askorbat, dan asam galat dari Sigma.

Alur Penelitian

Alur penelitian tahun pertama bisa dilihat pada Gambar 1.

Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis anava satu jalur untuk mengetahui pengaruh perbedaan sampel dan perbedaan perlakuan pada pembuatan ekstrak flavonoid madu terhadap analisis, jika berbeda nyata dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Hubungan antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH, kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP, aktivitas antioksidan metode DPPH dan kapasitas antioksidan metode FRAP diuji dengan regresi sederhana untuk mengetahui nilai korelasinya.

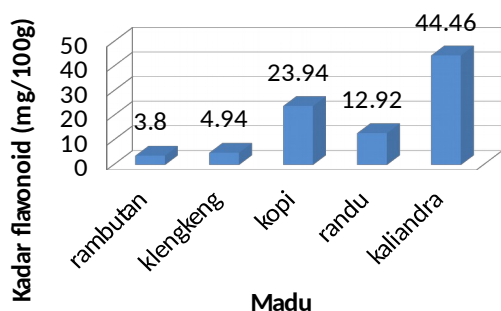
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kadar Flavonoid Total Madu Monoflora

Hasil analisis kadar flavonoid total dari beberapa jenis madu monoflora yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora

Jenis Madu Monoflora	Kadar Flavonoid Total (mg quercetin/100g)
Bunga Rambutan	$3,80 \pm 0,66$
Bunga Kelengkeng	$4,94 \pm 0,66$
Bunga Kopi	$23,94 \pm 1,14$
Bunga Randu	$12,92 \pm 2,87$
Bunga Kaliandra	$33,46 \pm 2,28$



Gambar 1. Histogram kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora (madu: 1=rambutan, 2=kelengkeng, 3=kopi, 4=randu, 5= kaliandra)

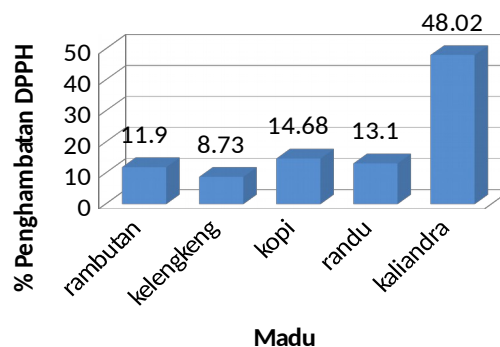
Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 1 dapat diketahui bahwa kadar flavonoid total tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra yaitu 33,46 mg/ 100 g, diikuti madu bunga kopi 23,94 mg/ 100 g, madu bunga randu 12,92 mg/ 100 g, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan rambutan masing-masing 4,94 dan 3,80 mg quercetin/ 100 g madu.

2. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Madu Monoflora

Hasil analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Beberapa Jenis Madu Monoflora

Jenis Monoflora	Madu	Aktivitas Antioksidan DPPH (% penghambatan)
Bunga Rambutan		$11,90 \pm 1,19$
Bunga Kelengkeng		$8,73 \pm 0,69$
Bunga Kopi		$14,68 \pm 1,37$
Bunga Randu		$13,10 \pm 1,19$
Bunga Kaliandra		$48,02 \pm 0,69$



Gambar 2. Histogram aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora (keterangan: lihat Gambar 1)

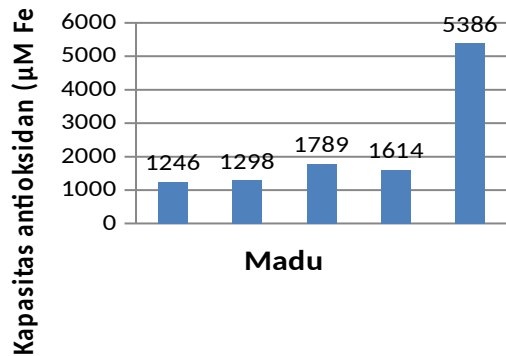
Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 2 dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan metode DPPH tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra dengan % penghambatan DPPH adalah 48%, diikuti madu bunga randu 13,1%, madu bunga rambutan 11,9%, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan kopi masing-masing 8,73 dan 5,56%.

3. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP pada Madu Monoflora

Hasil analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP pada Beberapa Jenis Madu Monoflora

Jenis Monoflora	Madu	Kapasitas Antioksidan FRAP ($\mu\text{M Fe (II)}$)
Bunga Rambutan		$1246 \pm 30,4$
Bunga Kelengkeng		$1298 \pm 80,4$
Bunga Kopi		$1807 \pm 30,4$
Bunga Randu		$1614 \pm 30,4$
Bunga Kaliandra		$5386 \pm 121,5$



Gambar 3. Kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora (keterangan: Lihat Gambar 1)

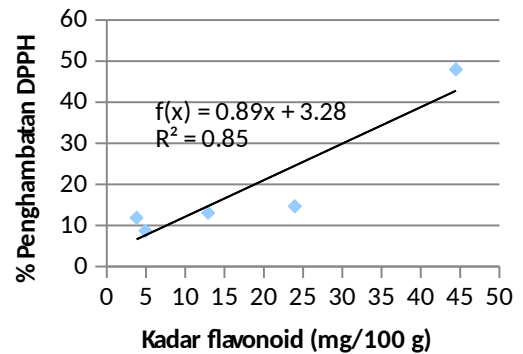
Dari Tabel 3 dan Gambar 3 dapat diketahui bahwa madu bunga kaliandra mempunyai kapasitas antioksidan paling tinggi sebesar 5386 µM Fe (II), diikuti oleh madu bunga kopi, randu, kelengkeng, dan rambutan dengan kapasitas antioksidan metode FRAP berturut-turut adalah 1789, 1614, 1298, dan 1246 µM Fe (II).

4. Hubungan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Madu Monoflora

Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora dapat dilihat pada Tabel 4 dan hasil regresinya dapat dilihat pada Gambar 4.

Tabel 4. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora

Jenis Monoflora	Madu	Kadar Flavonoid Total (mg/100g)	Aktivitas Antioksidan DPPH (% penghambatan)
Bunga Rambutan		3,80	11,90
Bunga Kelengkeng		4,94	8,73
Bunga Kopi		23,94	14,68
Bunga Randu		12,92	13,10
Bunga Kaliandra		33,46	48,02



Gambar 4. Grafik hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora dengan nilai $r=0,922$

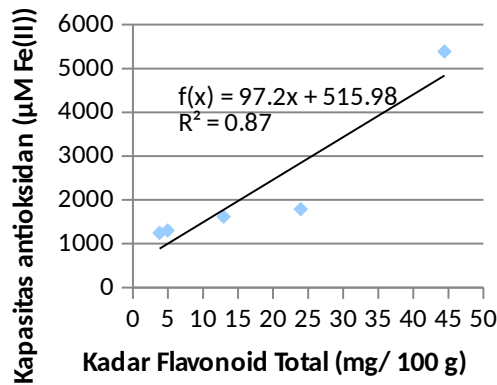
Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 3 dapat diketahui bahwa terdapat hubungan erat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH terbukti dengan nilai korelasi sebesar 0,922.

5. Hubungan Kadar Flavonoid Total dan Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora dapat dilihat pada Tabel 4 dan hasil regresinya terlihat pada Gambar 4.

Tabel 4. Kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada madu monoflora

Jenis Monoflora	Madu	Kadar Flavonoid Total (mg/100g)	Kapasitas Antioksidan FRAP (µM Fe (II))
Bunga Rambutan		3,80	1246
Bunga Kelengkeng		4,94	1298
Bunga Kopi		23,94	1789
Bunga Randu		12,92	1614
Bunga Kaliandra		33,46	5386



Gambar 4. Grafik hubungan kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora

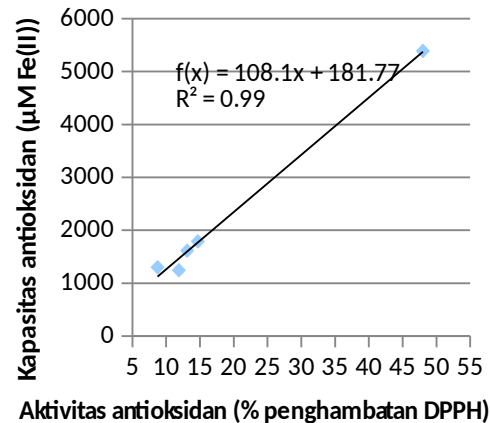
Berdasarkan Tabel 5 dan Gambar 5 dapat diketahui bahwa terdapat hubungan erat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH terbukti dengan nilai korelasi sebesar 0,931.

6. Hubungan Aktivitas Antioksidan DPPH dan Kapasitas Antioksidan FRAP pada Madu Monoflora

Data aktivitas antioksidan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP pada madu monoflora dapat dilihat pada Tabel 6 dan hasil regresi dan korelasinya dapat dilihat pada Gambar 6.

Tabel 6. Aktivitas antioksidan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP pada madu monoflora

Jenis Madu Monoflora	Aktivitas Antioksidan DPPH (% penghambatan)	Kapasitas Antioksidan FRAP (µM Fe (II))
Bunga Rambutan	11,90	1246
Bunga Kelengkeng	8,73	1298
Bunga Kopi	14,68	1789
Bunga Randu	13,10	1614
Bunga Kaliandra	48,02	5386



Gambar 6. Grafik hubungan aktivitas antioksidan DPPH dengan kapasitas antioksidan FRAP madu monoflora dengan nilai $r = 0,996$

1. Kadar Flavonoid Total Madu Monoflora

Hasil analisis kadar flavonoid madu monoflora dari lima jenis madu menunjukkan nilai antara 3,80 sampai 33,46 mg quercetin/ 100 g madu. Hasil yang diperoleh ini setara dengan kadar flavonoid madu Romania yang diteliti oleh Al dkk (2009) yang mendapatkan hasil flavonoid total empat jenis madu Romania antara 0,91-28,25 mg quercetin/ 100 g madu. Kadar flavonoid total dalam madu dipengaruhi oleh sumber bunganya.

2. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Madu Monoflora

Analisis pemerangkapan radikal DPPH adalah salah satu jenis analisis yang sederhana untuk mengetahui aktivitas donasi hidrogen/ elektron secara keseluruhan dari antioksidan tunggal dan suplemen antioksidan. DPPH merupakan singkatan dari diphenyl-1-picryl hydrazyl, yang merupakan bubuk kristal berwarna yang meliputi molekul radikal bebas yang stabil. Radikal DPPH mengabsorpsi panjang gelombang 517 nm, dan dalam sistem bebas substrat, aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan mengamati penurunan absorbansinya.

Secara teknis, analisis DPPH sederhana, tetapi mempunyai kelemahan. Perbedaan mekanisme dengan reaksi HAT yang biasa terjadi antara antioksidan dan radikal peroksil menyebabkan beberapa antioksidan dan bereaksi cepat dengan radikal peroksil akan bereaksi secara lambat dengan

DPPH, bahkan kemungkinan inert (Maurya dkk, 2014).

Aktivitas antioksidan metode DPPH yang didapat menunjukkan persentase penghambatan DPPH sebesar 8,73 untuk madu bunga kelengkeng sampai 48 untuk madu bunga kaliandra. Aktivitas antioksidan bunga kaliandra cukup tinggi, dan bisa dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada madu Tualang dari Malaysia sebesar 41,3% (Mohamed dkk, 2010) dan madu dari Romania sebesar 35,8-40,7% (Al dkk, 2009).

3. Hubungan antara Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Madu Monoflora
Dalam penelitian ini didapat hasil terdapat hubungan kuat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH yang ditunjukkan dengan nilai korelasi sebesar 0,922. Beberapa penelitian juga mengungkapkan fenomena yang sama, yaitu terdapat hubungan positif antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan, misalnya Al dkk (2009) yang menunjukkan korelasi sebesar 0,911 untuk madu Rumania, dan Hussein dkk (2011) dengan korelasi 0,855 untuk dua jenis madu Malaysia.

7. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tersebut dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar flavonoid total madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra berturut-turut adalah 3,80; 4,94; 23,94; 12,92 dan 33,46 mg quercetin/ 100 g madu.
2. Aktivitas antioksidan metode DPPH madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra berturut-turut adalah 11,9; 8,73; 5,56; 13,1 dan 48,0 %.
3. Aktivitas antioksidan metode DPPH madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra berturut-turut adalah 11,9; 8,73; 5,56; 13,1 dan 48,0 %.
4. Terdapat hubungan antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,922
5. Terdapat hubungan antara kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan

madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,931

6. Terdapat hubungan antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,996

8. REFERENSI

- Al, M. L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112(4), 863–867. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.055
- Aljadi, a. M., & Kamaruddin, M. Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518. doi:10.1016/S0308-8146(02)00596-4
- Hussein, S. Z., Yusoff, K. M., Makpol, S., & Yusof, Y. A. M. (2011). Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Molecules*, 16(9), 6378–6395. doi:10.3390/molecules16086378
- Maurya, S., Kushwaha, A. K., Singh, S., & Singh, G. (2014). An overview on antioxidative potential of honey from different flora and geographical origins. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 5(March), 9–19.
- Mohamed, M., Sirajudeen, K., Swamy, M., Yaacob, N., & Sulaiman, S. (2010). Studies on the Antioxidant Properties of Tualang Honey of Malaysia. *Afr. J. Trad. CAM*, 7(1), 59–63.

