

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Madu

2.1.1. Pengertian Madu

Madu adalah cairan alami, umumnya mempunyai rasa manis dan mempunyai flavor yang enak, yang dihasilkan dari lebah madu yang secara ilmiah dapat digunakan untuk mencegah penyakit kardiovaskuler, diabetes, inflamasi dan diare (Arawwawala and Hewageegana, 2017). Madu mempunyai aktivitas antioksidan dan antikanker yang tinggi (Sumarlin dkk, 2014). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI, 2013) definisi madu adalah cairan alami yang memiliki rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu (*Apis sp*) dari sari bunga tanaman (*flora nectar*) atau bagian lain dari tanaman.

Sejak ribuan tahun yang lalu sampai sekarang ini, madu telah dikenal sebagai salah satu makanan atau minuman alami yang mempunyai peranan penting dalam kehidupan. Madu memiliki efek antibakteri dan bermanfaat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan penyebab keracunan makanan, infeksi kulit, endokarditis dan meningitis (Nadhilla, 2014). Madu mengandung potensi antikanker dan antioksidan (Sumarlin dkk, 2014). Madu memiliki pengaruh dalam penurunan gula darah penderita diabetes militus (Widyawati dkk, 2013). Madu yang digunakan pada zaman

dahulu umumnya merupakan madu yang dapat diambil dari pohon yang terdapat dalam hutan yaitu madu hutan. Madu hutan dipanen langsung dari pohon di hutan tanpa proses penangkaran lebah. Madu hutan dihasilkan oleh lebah *Apis dorsata* yaitu jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan karena sifatnya yang afresif dan liar (Muslim, 2014). Sumber pakan dari lebah ini adalah tumbuh tumbuhan obat yang banyak tumbuh di dalam hutan hutan tropis di Indonesia.



Gambar 2.1 Sarang Lebah Sumber Madu Hutan (Handayani, 2018)

2.1.2. Kandungan Madu

Madu memiliki aktivitas antioksidan yang meliputi oksidase dan katalase. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif dari oksidator. Antioksidan berperan penting dalam menjaga kekebalan tubuh dari serangan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan penyakit yang berbahaya seperti kanker pada tubuh. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa

yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, sekaligus senyawa antioksidan utama didalam madu (Legowo, 2015).

Madu merupakan salah satu sumber makanan yang baik karena mengandung asam amino, karbohidrat, protein, vitamin serta mineral yang mudah diserap oleh sel-sel tubuh. Madu mengandung sejumlah mineral seperti magnesium, kalium, potasium, sodium, klorin, sulfur, besi, fosfat dan vitamin seperti vitamin E, vitamin C, vitamin B1, B2 dan B6. Selain itu madu juga mengandung banyak manfaat dan khasiat yang terkandung didalamnya (Sarwono B., 2001). Madu mengandung lima metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenolik. Flavonoid, tanin dan terpenoid (Yuliana dkk, 2015)

Madu yang berwarna cerah mengandung lebih banyak gula dibandingkan dengan madu berwarna gelap, warna gelap madu mengandung lebih banyak fenolik dibandingkan madu yang cerah (Eleazu dkk, 2013). Kandungan antioksidan pada madu terdiri dari antioksidan enzimatis dan non enzimatis, antioksidan enzimatis pada madu yaitu katalase, glukosa oksidase dan peroksidase, sedangkan non enzimatis yaitu asam askorbat, flavonoid, asam amino dan protein (Pontis dkk, 2014). Aktivitas antimikroba pada madu disebabkan adanya efek osmotik, keasaman, hydrogen peroksida dan faktor fitokimia (Kino dkk., 2012).

2.1.3. Manfaat Madu

Madu merupakan produk alami yang manis dan beraroma yang bermanfaat karena nilai gizi yang tinggi dan berkontribusi terhadap kesehatan manusia selama beberapa dekade. Sekitar 200 zat dilaporkan ada didalam madu, yang dianggap merupakan bagian penting dari pengobatan tradisional. Diantara berbagai senyawa tersebut sejumlah komponen dikenal sebagai antioksidan, misalnya vitamin C, vitamin E, senyawa fenolat dan enzim (misalnya katalase dan peroksidase). Madu juga mengandung berbagai senyawa fenolat yang merupakan sumber antioksidan yang baik, sehingga membuat madu merupakan aditif yang baik dan meningkatkan potensi dan penggunaan dalam *ethnomedicine* (Moniruzzaman dkk , 2013).

Secara umum madu berkhasiat menghasilkan energi, meningkatkan daya tahan tubuh, dan stamina. Madu cepat berdifusi melalui i darah, dan karena itu merupakan sumber energi yang cepat. Madu mendukung pembentukan darah serta membersihkan darah. Selain itu, juga ada efek positif dalam mengatur dan membantu peredaran darah tetap lancar (Shaikh, 2015).

2.2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang kehilangan satu buah elektron dari pasangan elektron bebasnya, atau dengan kata lain merupakan hasil pemisahan homolitik suatu ikatan kovalen. Molekul yang tidak berpasangan

tersebut menjadi tidak stabil dan radikal, supaya stabil molekul ini selalu berusaha mencari pasangan elektronnya dengan cara merebut elektron dari molekul lain secara membabi buta. Radikal bebas sering dikaitkan dengan berbagai peristiwa fisiologis seperti peradangan, penuaan dan penyebab kanker (Bhaigyabati dkk., 2011).

Peningkatan radikal bebas yang melebihi normal menyebabkan berkurangnya antioksidan yang berfungsi untuk menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga kadar total status antioksidan (TSA) dalam tubuh mengalami penurunan. Bila radikal bebas lebih tinggi daripada antioksidan maka terjadi ketidakstabilan oksidatif yang disebut stres oksidatif, yaitu terjadinya peningkatan peroksidasi lipid. Salah satu biomarker terjadinya stres oksidatif adalah tingginya kadar malondialdehid (MDA) akibat proses peroksidasi lipid yang berlebihan di dalam sel (Shofia dkk, 2013).

Tipe radikal bebas turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh. Oksigen reaktif ini mencakup superoksida, hidroksil, peroksil, hidrogen peroksida, peroksinitrit dan asam hipoklorit (Fessenden dan Fessenden, 1982:130). Sadikin (2008:17) menjelaskan bahwa perbuatan radikal bebas itu akan berakibat destruktif bagi molekul sel lain yang elektronnya dirampas. Aksi perampasan itu akan menimbulkan reaksi berantai sehingga radikal bebas terlahir semakin banyak. Radikal bebas akan merusak molekul makro pembentuk sel yaitu protein, karbohidrat (polisakarida), lemak dan *deoxyribo nucleic acid* (DNA).

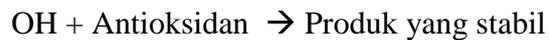
Supaya radikal bebas tidak merajalela, tubuh secara spontan akan memproduksi zat antioksidan. Sofia (2005:10) mendefinisikan antioksidan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil sehingga dapat melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas reaktif.

1. Reaksi tanpa adanya antioksidan

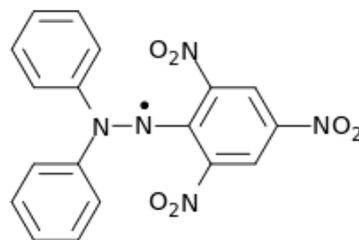


Radikal bebas yang lain akan memulai reaksi yang sama dengan molekul yang ada disekitarnya.

2. Reaksi dengan adanya antioksidan



Gambar ini struktur dari senyawa *2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl* salah satu radikal bebas yang bersifat tidak stabil



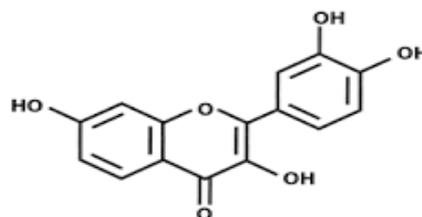
Gambar 2.2 Struktur *2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl* (Yuhernita, 2011)

2.3. Antioksidan

Gizi telah menjadi topik sentral dalam strategi pemerintahan setelah penelitian ilmiah jelas menunjukkan bahwa penyakit khas dari negara negara yang paling maju, seperti kardiovaskular, penyakit kanker dan penyebab utama lainnya dapat dicegah dengan asupan nutrisi yang tepat dan biologis senyawa aktif. Penelitian ilmiah banyak fokus pada antioksidan karena makanan yang kaya senyawa antioksidan penting untuk mencegah kerusakan oksidatif (Tuberoso dkk., 2012).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghilangkan, menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas. Mekanisme kerja senyawa antioksidan salah satunya yaitu dengan cara mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal menjadi lebih stabil. Antioksidan diperoleh dengan 2 cara yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman sayuran/ buah-buahan, dan dapat pula kita peroleh dari produk lebah seperti madu, propolis, royal jelly, lilin lebah, dan polen (Mahantesh, dkk., 2012).

Pada gambar dibawah ini merupakan struktur flavonoid salah satu sumber antioksidan.



Gambar 2.3 Struktur Dasar Flavonoid (Redha, 2010)

2.4. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa dari golongan polifenolik, yang biasa digunakan untuk menentukan kualitas dari suatu propolis. Senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid merupakan antioksidan yang baik, dan terbukti lebih baik daripada vitamin C, vitamin E dan karotenoid (Dai dan Mumper, 2010).

Flavonoid memiliki efek biologi yang bervariasi seperti aktivitas antioksidan, immunomodulasi, hipoglikemi, efek hipolipidemi dan melenturkan pembuluh darah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya, berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Amalia, 2015). Selain itu flavonoid juga bermanfaat untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektifitas vitamin C), anti inflamasi, mencegah keropos tulang, mencegah kanker dan sebagai antibiotik (Putri, 2014).

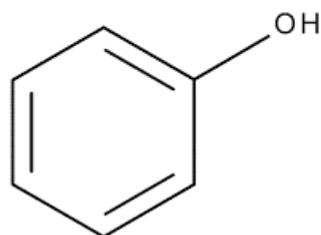
2.5. Fenolik

Senyawa fenolik termasuk senyawa bahan alam yang memiliki ciri utama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih substituen hidroksil. Berdasarkan strukturnya, senyawa fenolik bersifat polar sehingga cenderung mudah larut dalam air. Kelompok utama dari golongan senyawa ini antara lain fenol sederhana, fenil propanoid dan poliketida serta flavonoid dan stilben. Senyawa fenolik sudah banyak diisolasi dari tumbuhan obat dan

bahan alam lain yang bermanfaat. Seperti kacang-kacangan, buah-buahan, minyak zaitun, teh dan tumbuhan beraroma seperti mint (Ilyas, 2013).

Senyawa fenolik merupakan molekul yang dapat bertindak sebagai antioksidan untuk mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan, menurunkan kejadian kanker dan diabetes, serta mengurangi tingkat mutagenesis pada sel manusia. Perlindungan yang diperoleh dari mengonsumsi produk tanaman seperti buah-buahan, sayuran dan kacang-kacangan sebagian besar terkait dengan adanya senyawa fenolik dari tanaman tersebut (Khoddami dkk, 2013). Senyawa fenolik dapat memberikan perlindungan sebagai antioksidan dikarenakan senyawa fenolik dapat bereaksi dengan *reactive oxygen species* (ROS) dan menghilangkan aktivitas antiradikal bebasnya sehingga tidak berbahaya lagi terhadap tubuh manusia (Sochor, 2010). Salah satu senyawa fenolik yang mempunyai efek antioksidan yang sangat baik adalah CAPE (*Caffeic Acid Phenetyl Ester*) (Siregar dkk., 2011).

Gambar berikut adalah rumus struktur fenolik



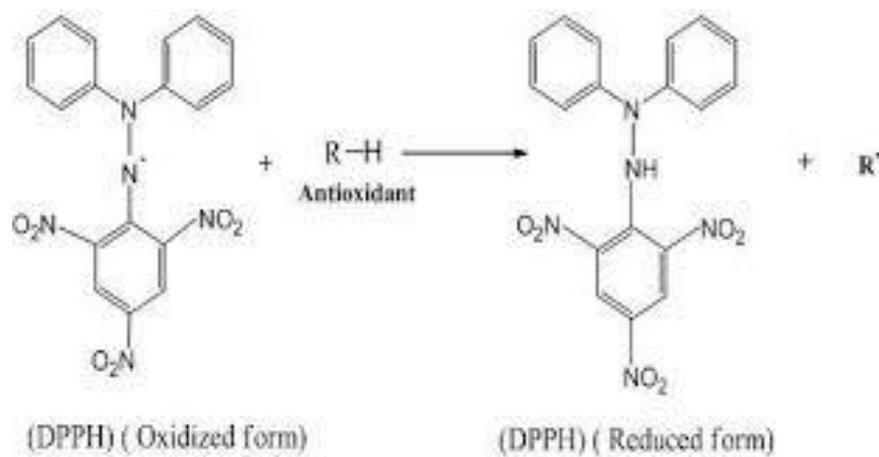
Gambar 2.4 Rumus Dasar Fenolik (Sarief, 2018)

Mengingat pentingnya fungsi senyawa fenolik dan flavonoid, maka penelitian korelasi kandungan fenolik madu terhadap aktivitas antioksidan

perlu dilakukan untuk menambah referensi sebagai alternatif pengobatan tradisional atau herbal dalam penyembuhan berbagai penyakit serta penggunaannya dapat dipertanggung jawabkan oleh masyarakat.

2.6. Metode Uji Antioksidan

2.6.1. Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)



Gambar 2.5 Reaksi antara DPPH dengan Antioksidan (Frindryani, 2016)

Salah satu metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat memperkirakan aktivitas antiradikal atau antioksidan. Uji kimia ini digunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia untuk mengkaji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas. Prinsip metode DPPH adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan, misalnya troloks, yang mengubahnya menjadi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (M.Ranjith Kumar, 2011).

Ketika larutan DPPH dicampur dengan suatu zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogen, maka akan menimbulkan bentuk tereduksi dengan kehilangan warna violet (walaupun masih diharapkan terdapat residu warna kuning pucat dari sisa kelompok picryl yang masih ada). Gambar 2.3 menunjukkan prinsip kerja dari senyawa DPPH, di mana senyawa ini akan menangkap donor elektron ataupun atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Interaksi tersebut akan menyebabkan terjadinya perubahan warna serapan maksimum dari ungu menjadi kuning, pada panjang gelombang maksimum 510-520 nm. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa radikal DPPH telah berikatan dengan antioksidan (Martysiak-Zurowska dan Wenta, 2012).

Kemampuan menangkal radikal bebas DPP H ditentukan dengan metode spektrofotometri yang absorbansi larutannya diukur dengan panjang gelombang 515nm. Hasil kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dinyatakan dalam mg GAE/g sampel (Sompong dkk, 2011).

2.6.2. Pengukuran Kandungan Fenolik Total

Analisis kandungan total senyawa fenolat dapat ditentukan secara spektrofotometri dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolik akan membentuk warna biru kompleks yang dapat menyerap radiasi sehingga bisa diukur (Pontis, J.A., dkk, 2014). Pereaksi Folin Ciocalteu merupakan suatu larutan kompleks yang terbuat dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari

air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat dan bromin (Nurhayati dkk, 2012).

Kandungan fenolat total dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (*gallic acid equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam 1 gram (Gheldof & Engeseth, 2002). Warna biru yang dihasilkan dari reaksi ini akan semakin pekat setara dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat pada larutan uji dan memiliki serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm (Blainski dkk, 2013).

2.7. Landasan Teori

Penelitian oleh Khalil dkk (2012) meneliti tentang madu tualang dari Malaysia mendapatkan total fenol madu sebesar 0,22 – 0,38 mg GAE/g. Kumazawa dkk (2012) menganalisa madu multiflora di Jepang dan mendapatkan total fenol sebesar 0,17 – 1,32 mg/g ; Madu *Echium vulgare* 0,29 mg/g (Nagai dkk, 2012); madu Czech 0,03-0,16 mg/g (Lachman dkk., 2010); madu Brazil 0,25 – 0,54 mg/g (Pontis dkk., 2014). Hal itu menunjukkan bahwa, setiap madu di beberapa negara mengandung senyawa fenolat yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh sumber nektar dari madu yang berbeda, cuaca dan iklim yang berbeda pula.

Pada penelitian sebelumnya oleh Ratnayani (2012) rata-rata persentase peredaman absorbansi DPPH madu randu yaitu 95,39% dan pada madu kelengkeng sebesar 62,00% dimana kadar senyawa fenolat tertinggi ada pada madu randu yaitu $1375,89 \pm 134,10$ mg GAE/ g dibandingkan dengan madu

kelengkeng yaitu $1136,49 \pm 39,62$ mg GAE/ g, berarti ada hubungan linier antara kadar total senyawa fenolat dengan aktivitas antioksidannya.

Berdasarkan data diatas dijadikan acuan peneliti untuk menganalisis korelasi kandungan fenolat madu multiflora dari Malang dan Alastuwo dengan aktivitas antiradikal bebas menggunakan DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*).

2.8. Hipotesis

Ada korelasi kandungan fenolik madu multiflora dari Malang dan Alastuwo terhadap aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*)