

## Characteristics and Flavonoid Content of Honey *Apis dorsata* Binghami from The Manembo Forest of South Minahasa

Melita Irene Gracia Kaligis<sup>1</sup> & Mocosuli Yermia Samuel<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, dan Kebumian, Universitas Negeri Manado, Sulawesi Utara, Indonesia.

<sup>2</sup>Laboratorium Bioaktivitas dan Biologi Molekuler, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian, Universitas Negeri Manado

### Article History

Received : October 21<sup>th</sup>, 2022

Revised : November 20<sup>th</sup>, 2022

Accepted : December 10<sup>th</sup>, 2022

\*Corresponding Author:

**Mocosuli Yermia Samuel**,  
Jurusan Biologi Fakultas  
Matematika Ilmu Pengetahuan  
Alama dan Kebumian,  
Universitas Negeri Manado,  
Indonesia.

Email:

[vermiamocosuli@unima.ac.id](mailto:vermiamocosuli@unima.ac.id)

**Abstract:** One of the producers of honey bees in North Sulawesi comes from the Manembo Forest, South Minahasa. Today many ordinary people do not know the quality of good honey. This study aims to study the characteristics of bee honey from the South Minahasa Manembo Forest based on SNI. The research was conducted in April-July 2022. The research method used for testing the quality of honey was using qualitative research methods. The data obtained were then analyzed using descriptive data analysis. Determination of total flavonoid levels using quercetin as a comparison. The absorbance value was measured by UV-Vis spectro-photometer. The absorbance value is then entered into the linear regression equation. The results showed that the characteristics of Manembo forest honey, South Minahasa Regency based on SNI 2018 parameters met the standards and quality with the percentage of reducing sugar 68.53%, sucrose content 3.07%, insoluble solids 0.14%, diastase enzyme DN=4 and 0.03% ash content while those that do not meet the standard are water content with a percentage of 25%. The results of the analysis of the total flavonoid content showed a value of 1.6 mgQE/g. For further research, it is recommended to make an antidiabetic or anti-bacterial analysis in forest honey.

**Keywords:** *Apis dorsata* Binghami; characteristics; flavonoids; honey.

### Pendahuluan

*Apis dorsata* Binghami merupakan lebah madu endemik Sulawesi utara yang hidup secara alami di hutan Sulawesi dan Pulau-pulau Sekitar (Mocosuli, 2019). *Apis dorsata* Binghami menghasilkan madu lebih banyak dibandingkan dengan *Apis mellifera*. Lebih lanjut, *Apis dorsata* Binghami memiliki variasi sumber pakan yang lebih besar dibandingkan dengan *Apis mellifera* (Mocosuli, 2013; Rafiudin, 2005).

Hutan Manembo, Minahasa Selatan dikenal sebagai daerah dengan banyak titik persarangan lebah *Apis dorsata* Binghami. Oleh karena itu wilayah tersebut merupakan salah satu penghasil madu di Sulawesi Utara. Lebah *A. dorsata* dikenal juga sebagai lebah madu hutan yang memiliki ukuran tubuh dan sarang paling

besar, sarangnya berbentuk sisiran tunggal, bersarang di tempat terbuka, dan biasanya menggantung pada dahan pohon besar. Kualitas madu sangat dipengaruhi oleh musim perbungaan tumbuhan.

Lebah *A. dorsata* memiliki banyak sekali subspecies yang diantaranya lebah *A. dorsata* Binghami. Lebah ini merupakan subspecies *A. dorsata* yang hanya terdapat di Pulau Sulawesi dan pulau-pulau sekitarnya. Sekarang ini banyak masyarakat awam yang belum mengetahui kualitas madu yang baik. Sejauh ini belum ada penelitian mengenai kualitas lebah madu *A. dorsata* Binghami yang ada di Sulawesi. Pada umumnya semua tanaman berbunga merupakan sumber pakan lebah, karena lebah menghasilkan madu dari polen atau nektar yang merupakan sumber makanan (Mocosuli *et al.*, 2019).

## Bahan dan Metode

### Waktu dan tempat

Sarang lebah Apis dorsata Binghami diperoleh dari Hutan Manembo Minahasa Selatan pada bulan April-Juli 2022. Analisis karakteristik dan kandungan flavonoid madu dilakukan dilaboratorium Bioaktivitas dan Biofarmaka Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumihan, Universitas Negeri Manado bulan Juli – Agustus 2022.

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hotplate, timbangan neraca analitik, cawan petri, cawan porselin, erlenmeyer 250 ml, pipet volumetrik 1 ml, 10 ml, 5 ml, labu ukur 100 ml, 250 ml, gelas piala 400 ml, 50 ml, gelas beaker 250 ml, 100 ml, 50 ml, gelas ukur 10ml, 25ml, penangas air, pendingin tegak, autoclaf, termometer, buret 10ml dan 50 ml, stopwatch, desikator, kertas saring, kertas pH, oven, dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu terdiri dari sampel madu lebah *Apis dorsata* Binghami, aquades, larutan luff school pH 9,3, HCl 25%, NaOH 30%, indikator PP, KI 20%, Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4 N dan 2 N, larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N, larutan KIO<sub>3</sub> 0,1 N, larutan iod 0,0007N, kuersetin, etanol 95%, larutan AlCl<sub>3</sub> 10%, larutan dapar asetat/ buffer asetat pH 3,5, larutan potassium asetat 1M, NaCl.

### Metode penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode deskriptif secara kualitatif. Pendekatan yang dipakai adalah pendekatan observasi, pengujian sampel madu juga dilakukan berdasarkan SNI 8664-2018.

### Kadar air

Sampel ditimbang sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang yang sudah diketahui beratnya. Sampel dimasukkan kedalam oven pada suhu 105- 110°C selama 2 jam. Setelah itu sampel didinginkan dalam eksikator selama 10 menit kemudian ditimbang dan dimasukkan kedalam oven kembali selama 1 jam. Sampel didinginkan dalam eksikator selama 10 menit kemudian ditimbang kembali. Diulangi pemanasan dalam oven dan penimbangan sampai berat konstan (selisih penimbangan berturut- turut

≤ 0,2 mg) kemudian dihitung kadar air sampel dengan persamaan 2

### Kadar pH Madu

Pengujian pH madu dilakukan dengan menggunakan pH stik universal. Sampel madu di tampung dalam botol gelas kemudian dicelupkan dengan kertas pH, hasilnya dibandingkan dengan standar warna pada kertas pH universal (Ambari & Sueni 2019).

### Kadar gula pereduksi

Pengujian ketepatan larutan Luff School Larutan Luff School dipipet sebanyak 25 ml tambahkan 3 g KI dan 25 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3M. Titrasi dengan larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 n dengan indikator kanji 0,5%. Larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> yang dibutuhkan seharusnya 25 ml. Larutan Luff School harus mempunyai pH 9,3 – 9,4. Penentuan kadar gula pereduksinya yaitu sampel ditimbang 2 g dan dimasukkan dalam labu ukur 250 ml, dan ditambah akuades sampai tanda batas dan kocok. Larutan dipipet 10 ml dan dimasukkan dalam erlenmeyer. Larutan sampel ditambahkan 15 ml akuades dan 25 ml larutan Luff School (dengan pipet volume), erlenmeyer di hubungkan dengan pendingin tegak, dipanaskan diatas pemanas listrik, dan diusahakan dalam waktu 3 menit sudah harus mulai mendidih.

Larutan sampel dipanaskan terus menerus selama 10 menit (memakai stopwatch) kemudian diangkat dan dinginkan dalam bak berisi es (tidak boleh digoyang). Setelah dingin ditambahkan 10 ml larutan KI 20% dan 25 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% (hati-hati terbentuk gas CO<sub>2</sub>). Larutan kemudian dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N dengan indikator larutan kanji 0,5%. Penetapan blanko dilakukan dengan sampel berisi 25 ml air dan 25 ml larutan Luff School seperti di atas.

### Kadar sukrosa

Sampel ditimbang 2 g dan dimasukkan dalam labu ukur 250 ml, kemudian ditambah akuades sampai tanda batas dan dikocok. Larutan dipipet 50 ml masukkan dalam labu ukur 100 ml dan ditambah 25 ml HCl 25%, dipasang termometer dan di hidrolisis diatas penangas air. Apabila suhu mencapai 68°C-70°C suhu dipertahankan selama tepat 10 menit. Termometer diangkat dan dibilas dengan air, dan didinginkan.

Larutan NaOH 30% ditambahkan sampai netral (warna merah jambu) dengan indikator PP

dan ditambahkan aquades sampai tanda batas kemudian dikocok. Larutan tersebut dipipet 10 ml dan dimasukkan kedalam erlenmeyer. Aquades ditambahkan sebanyak 15 ml dan 25 ml larutan Luff Schoorl (dengan pipet volume). Erlenmeyer dihubungkan dengan pendingin tegak, dipanaskan diatas pemanas listrik, dan diusahakan dalam waktu 3 menit sudah harus mulai mendidih.

Larutan kemudian dipanaskan selama 10 menit (memakai stopwatch) kemudian diangkat dan dinginkan dalam bak berisi es (tidak boleh digoyang). Setelah dingin ditambahkan 10 ml larutan KI 20% dan 25 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% (hati-hati terbentuk gas CO<sub>2</sub>). Larutan dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N dengan indikator larutan kanji 0,5%. Dilakukan titrasi blanko.

#### **Aktivitas enzim diatase**

Sampel madu ditimbang terlebih dahulu sebanyak 10 gr kemudian dilarutkan dengan 20-25 ml aquades. Selanjutnya larutan madu ditambahkan dengan 5 ml larutan dapar asetat dan dicampurkan dengan 3 ml natrium klorida pada labu ukur 50 ml. Penambahan ditunjukkan untuk menstabilkan aktivitas enzim. Kemudian dilakukan tera dengan cara dipepet 5 ml larutan pati dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan 10 ml larutan contoh sampel madu ke bagian dasar tabung. Selanjutnya larutan di inkubasi selama 15 menit pada suhu 40 derajat celcius kurang lebih 0,2 derajat celcius menggunakan waterbath.

Larutan uji di kocok dengan cara tabung reaksi digerakan ke depan atau ke belakang dalam posisi miring kemudian stopwatch diaktifkan. Setelah 5 menit 1 ml larutan uji dipepet dan di pindahkan ke erlenmeyer 100 ml yang di dalamnya telah terdapat 10 ml larutan Iod 0,0007 N (88,8 ppm) dan diencerkan sampai volume sesuai dengan yang di dapatkan pada langkah sebelumnya (pencarian faktor pengenceran). Kemudian larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm hingga di dapatkan absorbansi <0,235.

Langkah tersebut terus dilakukan dengan interval waktu selama 5 menit untuk madu yang diperkirakan memiliki nilai diatase kecil (<35DN) (*diatase number*) dan selang waktu 10 menit bagi madu yang diperkirakan memiliki diatase tinggi. Selanjutnya setelah didapat

absorbansi <0,235, pengukuran dihentikan dan di plotkan dengan regresi linier dengan sumbu x sebagai waktu inkubasi dan sumbu y adalah absorbansi hasil pengukuran selama kurun waktu hingga mencapai <0,235. Persamaan regresi linier yang dihasilkan dimasukkan nilai 0,235 untuk mendapatkan nilai waktu (t). Selanjutnya hasil yang didapatkan dimasukkan sebagai waktu (t) pada persamaan *diatase number* (DN) dengan menggunakan rumus:

#### **Kadar padatan tak larut**

Pengamatan terhadap total padatan yang tak larut dalam air madu sesuai dengan SNI gula (SNI 8664-2018). Ditimbang 5 g sampel dan dilarutkan di dalam air panas sebanyak 100 ml. Kemudian disaring dengan kertas saring yang telah diketahui bobot tetapnya. Lalu dicuci dengan air panas. Selanjutnya kertas saring yang telah berisi zat-zat tak larut dalam air dikeringkan pada suhu 100-105 0C dalam oven selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai bobotnya tetap. Rumus padatan tak larut air.

#### **Kadar abu**

Timbang dengan seksama 2-3 gram madu ke dalam sebuah cawan porselin yang telah diketahui bobotnya, untuk contoh cairan, uapkan di atas penangas air sampai kering. Arangkan di atas nyala pembakar, lalu abukan dalam tanur listrik. Pada suhu maksimum 550oC sampai pengabuan sempurna (sekali-kali pintu tanur di buka sedikit, agar oksigen bisa masuk). Dinginkan dalam eksikator, lalu timbang dengan bobot tetap.

#### **Analisis kuantitatif flavonoid**

Analisis kuantitatif flavonoid dengan metode kolorimetri secara Spektrofotometri visible (Lindawati *et al.*, 2020).

##### **a. Pembuatan kurva standar kuarsetin**

Ditimbang sebanyak 25 mg baku standar kuarsetin dan dilarutkan dalam 25 mL etanol. Larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan etanol sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuarsetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm dan 9 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuarsetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%

dan 1 mL kalium asetat 1 M. Sampel diinkubasi selama satu jam pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 435 nm (Stankovic, 2011).

b. Penetapan kadar flavonoid total madu hutan.

Sampel madu ditimbang sebanyak 15 mg, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol, sehingga diperoleh konsentrasi 1500 ppm. Larutan tersebut dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl<sub>3</sub> 10% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama satu jam pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 435 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Stankovic, M.S., 2011).

c. Pembuatan larutan blanko

Sebanyak 3 ml etanol 95% dimasukkan dalam beaker glass lalu tambahkan AlCl<sub>3</sub> 10% sebanyak 0,2 ml. Kemudian ditambahkan CH<sub>3</sub>COOK 1M sebanyak 0,2 ml lalu larutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan tambahkan aquadest hingga tanda batas.

Penetapan kadar flavonoid total ditentukan menggunakan persamaan regresi linier dengan berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan dari alat spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi sampel yang diperoleh dari penetapan kadar flavonoid dimasukkan ke dalam persamaan linier sebagai y, dengan demikian diperoleh nilai x

sebagai kadar flavonoid total dalam larutan sampel. Persamaan regresi linier.

## Hasil dan Pembahasan

### Karakteristik madu hutan berdasarkan parameter SNI 8664-2018.

#### Kadar Air

Sampel madu dari hutan Manembo memiliki kadar air sebesar 25% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa sampel madu dari hutan Manembo Minahasa selatan mempunyai kadar air melebihi batas SNI 2018 (maksimum 22%). Tingginya kadar air madu tidak mengindikasikan adanya pemalsuan madu, tetapi disebabkan pada saat panen sarang lebah madu tersebut belum semua madu tertutup lilin. Kadar air dalam madu menentukan kualitas madu, apabila kadar airnya tinggi maka kualitas madu menjadi rendah. Kadar air madu dapat dipengaruhi oleh iklim, dan penanganan pasca panen didukung oleh penelitian sebelumnya dari (Gairola *et al.*, 2013).

Kandungan kadar air yang tinggi pada madu akan merangsang aktifitas khamir untuk tumbuh dan berkembang dalam madu (Prasetya dan Andi, 2014). Umur panen juga mempengaruhi komposisi air pada madu. Madu yang dipanen pada umur tua mempunyai kadar air lebih sedikit dari pada madu yang dipanen pada umur yang lebih muda. Semakin lama madu dalam sarang lebah maka penguapan kadar air pada madu akan semakin sempurna pematangan madu ditandai dengan tertutupnya sel madu oleh lilin (Suranto, 2010).

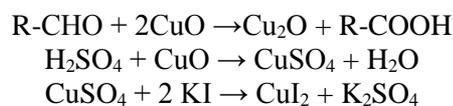
**Tabel 1.** Hasil uji madu berdasarkan parameter SNI 8664-2018

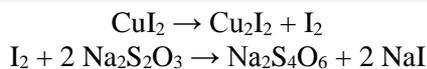
No	Jenis uji	Satuan	Syarat	Madu hutan Manembo
1.	Kadar air	% b/b	Maks. 22	25
2.	Kadar gula pereduksi (Glukosa)	% b/b	Min. 65	68,53
3.	Kadar sukrosa	% b/b	Maks. 5	3,07
4.	pH	pH	Maks. 4	4
5.	Padatan tak larut	% b/b	Maks 0,50	0,14
6.	Kadar abu	% b/b	Maks 0,05	0,03
7.	Aktivitas enzim diastase	DN	Min. 3	4

### Kadar gula pereduksi

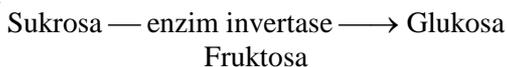
Penentuan kadar gula pereduksi dilakukan dengan metode Luff Shcrool yang didasarkan pada proses reduksi Cu<sup>2+</sup> menjadi Cu<sup>+</sup> oleh gula pada madu dan mengandung ion Cu<sup>2+</sup>. Gula pereduksi seperti glukosa dan fruktosa akan mereduksi CuO menjadi Cu<sub>2</sub>O (SNI 2004).

Tahapan reaksi yang terjadi pada penetapan kadar gula dengan metode Luff School pada reaksi dibawah ini (Harjadi, 1992).





Kadar gula pereduksi ditunjukkan oleh kadar gula sebelum inversi, sedangkan kadar sukrosa ditunjukkan oleh selisih kadar gula sebelum dan sesudah inversi. Reaksi inversi gula seperti dibawah ini



Hasil uji gula pereduksi menunjukkan bahwa sampel madu memenuhi syarat mutu madu (SNI 2018) (Tabel 1). Hal ini dikarenakan kadar gula pereduksi madu hutan Manembo sebesar 68,53% yang diperoleh dari hasil penimbangan dan perhitungan. Hasil uji gula pereduksi pada sampel madu disajikan pada tabel 2.

**Tabel 2.** Data hasil uji gula pereduksi pada sampel madu

Timbangan	Berat sampel (mg)	Normalitas tio	Volume titrasi (ml)	Blanko	Kadar (%)
1	2.000	0,1090	6,00	25,10	68,53%

Madu memiliki komponen utama yaitu karbohidrat dari golongan monosakarida yang terdiri atas glukosa dan fruktosa. Pengujian mutu madu menurut SNI, kedua monosakarida tersebut diistilahkan sebagai gula pereduksi. Menurut SNI syarat mutu gula pereduksi minimal adalah 65%. Sampel madu manis kadar gula pereduksi adalah 64,91% dan sampel madu pahit adalah 54,75%. Perbedaan kandungan gula pereduksi dapat terjadi karena madu yang belum matang sudah dipanen padahal proses inversi oleh enzim invertase lebah dari sukrosa nektar menjadi glukosa dan fruktosa pada madu belum sempurna (Kucuk *et al.*, 2007 dalam Sukmawati *et al.*, 2015). Penyebab lain yang bisa terjadi adalah karena adanya pencampuran dengan zat-zat lain (sukrosa atau air) sehingga gula reduksi menjadi lebih rendah. Oleh karena itu SNI madu

mensyaratkan kandungan sukrosa dalam madu kurang dari 5%.

### Kadar sukrosa

Sampel madu hutan Manembo memiliki kandungan sukrosa sebesar 3,07% (Tabel 1). Nilai tersebut menunjukkan bahwa madu hutan Manembo memenuhi SNI 2018 yang memiliki nilai standar maksimum 5%. Kadar sukrosa pada sampel madu diperoleh dari hasil penimbangan dan perhitungan pada tabel 3. Nilai tersebut tidak berbeda jauh dengan studi yang dilakukan Kamal *et al.*, (2002) memperoleh kandungan sukrosa madu hutan berkisar antara 1,1-3,4%. Namun, studi yang dilakukan Qamar *et al.*, (2008) mendapatkan kandungan sukrosa madu hutan berasal dari hutan Terai di Nepal berkisar antara 12-20% yang diduga keberdaan perkebunan dan industri gula pasir disekitar hutan.

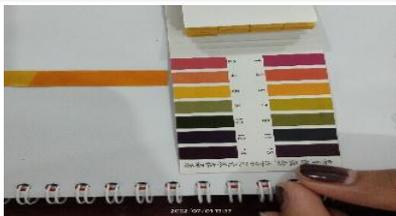
**Tabel 3.** Data hasil uji sampel pengujian sukrosa

Timbangan	Berat sampel (mg)	Normalitas tio	Volume titrasi (ml)	Blanko	Kadar (%)
1	2.000	0,1090	15,60	25,10	3,07%

### Kadar pH

Madu hutan Manembo Minahasa selatan memiliki pH 4 yang memenuhi SNI (Tabel 1). Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus pH test universal (Gambar 1) yang merupakan parameter pembanding SNI 2018 yaitu (pH 4-5). Parameter pH berfungsi untuk mengetahui kemungkinan kontaminasi mikroba dan berpengaruh pada penyimpanan, tekstur, stabilitas dan masa *shelf life* madu. Sebagian besar bakteri dan jamur tumbuh dalam

lingkungan yang netral dan sedikit basa, sementara ragi mampu tumbuh di lingkungan asam pH = 4,0 - 4,5 dan tidak akan tumbuh dalam media alkali. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa nilai pH madu Hutan manembo perlu dilakukan teknik penanganan untuk mencegah pertumbuhan jamur. Selain itu, pH madu hutan manembo berada pada range pertumbuhan yang optimal (Qadar *et al.*, 2015).



**Gambar 1.** pH madu Hutan Manembo Minahasa Selatan (Dokumentasi pribadi)

### Padatan tak larut

Hasil pengujian madu hutan manembo menunjukkan kadar padatan tak larut dalam air didalam madu senilai 0,14 % (Tabel 1). Hasil tersebut membuktikan kadar padatan tak larut madu hutan manembo memenuhi standar yang sudah di tetapkan pada SNI 2018 yaitu maksimum 0,50%. Proses penyaringan dalam uji padatan tak larut disajikan pada gambar 2. Air yang digunakan adalah air panas sehingga bisa jadi kandungan yang terdeteksi di kadar abu larut saat diberi air panas. Hal ini disebabkan adanya kenaikan suhu dan waktu evaporasi dapat meningkatkan persentase total padatan tak larut air pada madu (Putri *et al.*, 2018).



**Gambar 2.** Penyaringan zat tak larut sampel madu (Dokumentasi pribadi)

### Kadar abu

Hasil pengujian kadar abu menunjukkan sampel madu hutan Manembo memiliki kadar abu sebesar 0,03% (Tabel 1). Nilai tersebut mengindikasikan bahwa madu hutan Manembo memenuhi mutu nilai kadar abu abunya sesuai dengan yang di tentukan pada SNI 2018 yaitu maksimum 0,05 %. Kadar abu yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 3.

Kadar abu pada madu dipengaruhi oleh adanya kandungan mineral yang berasal dari nektar serta sumber makanan lebah yaitu pollen atau serbuk sari. Selain itu produksi dan tipe madu yang dihasilkan oleh lebah madu tergantung pada bunga vegetatif alami yang berbunga pada musim panas (Amalia, 2016). Setiap madu memiliki kandungan mineral yang berbeda-beda. Hal ini tergantung pada sumber tanah dan juga nektar yang berada di sekitar sarang lebah (Sihombing, 2005). Semakin tinggi kadar abu suatu sampel maka kandungan mineral pada madu tersebut juga tinggi (Qadar, 2015).



**Gambar 3.** Abu madu hutan Manembo Minahasa Selatan (Dokumentasi pribadi)

### Aktivitas enzim diastase

Hasil pengujian menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa madu hutan Manembo memiliki aktivitas enzim diastase sebesar 4 DN (Tabel 1). Nilai tersebut memili arti bahwa madu hutan Manembo memenuhi syarat mutu madu SNI 2018. Hasil perhitungan menggunakan diastase number disajikan pada tabel 4. Semakin lama proses penyimpanan madu akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim diastase sehingga menjadi tidak aktif. Hal ini didukung Tosi *et al.*, (2008) menyatakan bahwa *Honey Quality and International Regulatory Standad* yang dikeluarkan *International Honey Commision* dimana aktivitas enzim diastase tidak boleh dibawah 8. Rendahnya nilai aktivitas enzim diastase mengindikasikan madu sudah tidak segar lagi atau telah mengalami proses pemanasan menggunakan suhu tinggi. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan viskositas madu sehingga dapat menurunkan kadar airnya.

**Tabel 4.** Hasil Uji Aktivitas Enzim Diatase menggunakan spektrofotometri UV-Vis

Sampel	Waktu inkubasi						Hasil perhitungan	Kesimpulan
	15 menit	25 menit	35 menit	45 menit	65 menit	75 menit		
Madu hutan Manembo Minahasa selatan	0,670	0,545	0,453	0,418	0,251	0,221	4	MS

\*MS = Memenuhi Syarat

### Kandungan Flavonoid Total

Pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dengan maksimal panjang gelombang 435 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS. Absorbansi kuersetin yang digunakan sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 9 ppm (Tabel 5). Deret tersebut digunakan karena untuk penentuan kadar yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode persamaan kurva baku. Beberapa deret konsentrasi harus dibuat terlebih dahulu agar mendapatkan persamaan linear yang akan digunakan untuk menghitung kadar. Hasil perhitungan kadar kuersetin maka diperoleh nilai absorbansi yang ditunjukkan pada tabel 5.

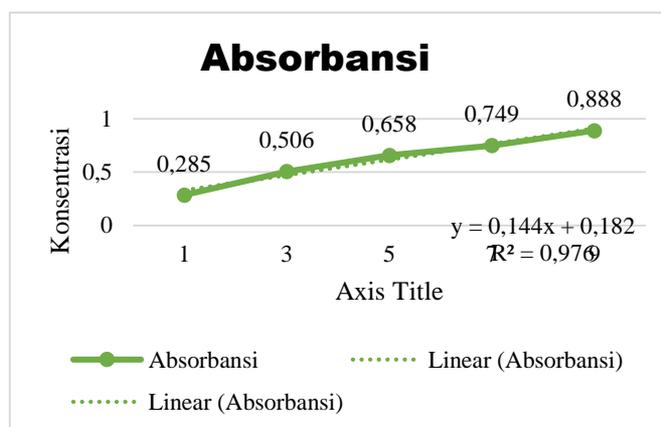
**Tabel 5.** Absorbansi kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0,285
3	0,506
5	0,658
7	0,749
9	0,888

Persamaan kurva kalibrasi kuersetin (Gambar 8) dapat digunakan sebagai salah satu pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid pada total ekstrak sampel. Sampel madu hutan Manembo Minahasa selatan memiliki kandungan flavonoid total sebesar 1,6 mg (Tabel 6).

**Tabel 6.** Total kadar flavonoid madu hutan Manembo

Sampel	Abs (y)	Kandungan total flavonoid (mgQE/g)
Madu Hutan Manembo	0,243	1,6



**Gambar 4.** Kurva absorbansi kuersetin

Nilai tersebut membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan yang digunakan, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang diperoleh (Tabel 5). Hasil baku kuersetin yang diperoleh kemudian diplotkan antara kadar dan absorbannya, sehingga diperoleh persamaan regresi linear yaitu  $y =$

$0,144x + 0,182$  dengan nilai  $R^2 = 0,976$ . Persamaan kurva kalibrasi kuersetin gambar dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid pada total ekstrak sampel.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini setara dengan kadar flavonoid total pada empat

jenis madu Romania antara 0,91-28,25 mg quercetin/100 g madu (Al *et al.*, 2009). Kadar flavonoid total dalam madu dipengaruhi oleh sumber bunganya. Hasil kandungan flavonoid total yang telah didapat dalam penelitian ini menunjukkan madu yang memiliki kandungan senyawa flavonoid total mempunyai karakteristik presentase kadar air melebihi standar yang telah ditetapkan oleh SNI. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Zahra, *et al.*, 2021 dimana madu *Trigona* sp memiliki kandungan flavonoid tinggi dalam keadaan segar.

Madu mengandung banyak konstituen aktif dan antioksidan seperti polifenol dan flavonoid. Flavonoid dan polifenol adalah dua molekul bioaktif utama yang terkandung dalam madu. Senyawa fenol menjadi faktor penanggung jawab utama madu sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid total diketahui memiliki berbagai efek biologis sebagai antioksidan, melindungi struktur sel, antiinflamasi, dan sebagai antiseptik (Xia *et al.*, 2010).

Polifenol alami mewakili kelompok besar metabolit tumbuhan (Mokusuli *et al.*, 2008). Senyawa polifenol memiliki karakteristik kemopreventif alami dan agen terapeutik. Kemopreventif merupakan aspek penting untuk pengurangan kasus kanker baru, dan unsur tambahan untuk mengurangi jumlah kanker hingga kematian terkait yang disebabkan oleh kekambuhan. Polifenol adalah komponen diet alami yang efektif pada pencegahan kanker. Namun, efektivitas mereka dalam kemoprevensi dibatasi oleh yang rendah bioavailabilitas. Pemanfaatan polyphenol-based synbiotics adalah pendekatan baru untuk chemoprevention kanker, dan studi lebih lanjut sangat penting dalam evaluasi efektivitas *in vivo* (Wulansari, 2018).

## Pembahasan

Madu murni di Indonesia yang baru diambil dari sarangnya biasanya memiliki kandungan air sebanyak 25% dari beratnya dan biasanya mencapai 33% jika terkontaminasi udara luar (Bogdanov *et al.*, 2004). Indonesia mempunyai kelembaban yang tinggi yakni berkisar 60-90% (Sihombing, 2005), sehingga kadar air madu dipengaruhi kelembaban lingkungan yang ada. Hal ini disebabkan madu mempunyai sifat higroskopis, yaitu mudah menyerap air. Semakin tinggi kelembaban

lingkungan maka kadar air madu akan semakin tinggi pula. Jika kelembapan 51% maka kadar air madu 16,1% (Sarwono, 2007). Jika kelembapan 81% maka kadar air madu 33,4% (Sarwono, 2007). Kadar air madu sangat berpengaruh terhadap fermentasi, yang mana semakin rendah kadar air akan menjaga madu dari kerusakan untuk jangka waktu yang relatif lama. Pengeringan adsorpsi merupakan salah satu alternatif penurunan kadar air madu yang berguna untuk meningkatkan kualitas madu dan efisiensi energi proses pengeringan.

Kandungan sukrosa pada madu berasal dari nektar *Banksia sphaerocarpa* yang mengandung kadar sukrosa tinggi akan meningkatkan kadar sukrosa pada madu sampai 20,5% (Smith, 1965). Kadar sukrosa menjadi salah satu parameter dalam menentukan palsu atau murninya suatu produk madu. Hal ini disebabkan gula sukrosa merupakan gula majemuk yang belum dipecah oleh enzim amilase atau invertase yang hanya dimiliki oleh lebah. Selama proses pematangan nektar menjadi madu, sukrosa yang berasal dari nektar akan dipecah oleh aktivitas enzim invertase menjadi bentuk gula sederhana yaitu glukosa dan fruktosa.

Kandungan TDS (Total Disoluble Solid) atau total padatan tak larut yang rendah dapat terjadi karena dilakukannya proses penyaringan sebelum proses pemasakan (Maharani *et al.*, 2014). Proses penyaringan dalam uji padatan tak larut, air yang digunakan adalah air panas sehingga bisa jadi kandungan yang terdeteksi di kadar abu larut saat diberi air panas. Faktor lain yang juga mungkin terjadi adalah adanya impurities atau zat pengotor yang tak kasat mata baik pada sampel madu atau air yang digunakan. Hal ini yang menyebabkan hasil uji padatan tak larut dalam air berbanding terbalik dengan hasil uji kadar abu. Namun hasil uji ini bertentangan dengan teori yang ada, seharusnya tingginya hasil uji kadar abu secara umum sebanding dengan total padatan tak larut air (Putri, 2017).

Enzim diastase adalah enzim yang mengubah karbohidrat kompleks (polisakarida) menjadi karbohidrat sederhana (monosakarida) (Suranto, 2004). Aktivitas enzim diastase dapat digunakan sebagai indikator untuk mendeteksi perlakuan panas pada madu. Enzim merupakan protein, dan hanya aktif pada keadaan tertentu. Enzim akan cepat rusak apabila kondisi terlalu

asam, terlalu basa, terkena panas atau logam berat (Achmadi, 1991). Pemanasan pada suhu di atas 40°C menyebabkan aktivitas enzim diastase menurun bahkan pada suhu tinggi menyebabkan enzim tersebut menjadi tidak aktif dan semakin lama penyimpanan dapat menyebabkan enzim tersebut menjadi tidak aktif. Menurut Standar Mutu Madu dan Standar Internasional, dari Komisi Madu Internasional, aktivitas diastase tidak boleh kurang dari atau sama dengan 8, dinyatakan sebagai nomor diastase (DN). DN dalam skala Schade, yang sesuai dengan nomor skala Gothe, didefinisikan sebagai total gram pati yang terhidrolisis dalam 1 jam pada 40°C per 100 gram madu. Nilai aktivitas minimum diastase 3 untuk madu alam dengan kandungan enzim rendah (Codex, 2001).

Madu yang memiliki senyawa flavonoid biasanya mempunyai kadar air lebih tinggi. Hal ini disebabkan penyimpanan yang cukup lama, pengaruh cahaya matahari dan posisi sarang lebah serta di pengaruhi oleh kelembapan di area sarang. Pernyataan ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan Evahelda *et al.*, (2017) yang menyatakan kandungan flavonoid madu dipengaruhi kadar air. Madu yang berwarna lebih gelap umumnya memiliki kandungan fenolik dan kekuatan antioksidannya semakin tinggi. Perlu diingat bahwa aktivitas antioksidan tergantung pada botani asal dari madu dan variasi madu dari sumber yang berbeda. Aktifitas Antioksidan BV dan RJ juga telah dilaporkan (Mokusuli, 2008). Mengonsumsi madu memberikan efek antioksidan yang lebih tinggi di dalam darah dibandingkan dengan asupan teh hitam, walaupun efek *in vitro* yang diukur dalam satuan ORAC lima kali lebih kecil dibandingkan teh hitam (Mokusuli *et al.*, 2019).

## Kesimpulan

Berdasarkan tujuan penelitian, hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa karakteristik madu Hutan Manembo Minahasa Selatan berdasarkan parameter SNI 2018 memenuhi persyaratan dan mutu karena memiliki persentase kadar gula pereduksi sebesar 68,53%. Madu Hutan Manembo Minahasa memiliki kadar sukrosa sebesar 3,07%, padatan tak larut 0,14%, kadar pH yang terdapat pada madu yaitu 4, aktivitas enzim diastase yang didapat memiliki nilai DN=4, serta kadar abu

0,03%. Selanjutnya, kadar air pada madu tersebut belum memenuhi Standar Nasional Indonesia karena memiliki persentase yaitu kadar air 25%. Selain itu, madu Hutan Manembo Minahasa memiliki kandungan flavonoid total sebesar 1,6 mgQE/g.

## Ucapan Terima Kasih

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, oleh karena berkat dan rahmat-Nya-lah peneliti dapat menyelesaikan tahapan penelitian dan artikel Ilmiah ini. Peneliti sadar bahwa penelitian ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan doa, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Adapun dalam kesempatan ini peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat aktif dalam menyumbangkan ide, saran, gagasan, pendapat serta masukan yang sangat berguna bagi terselesainya penelitian dan artikel ilmiah ini.

## Referensi

- Achmadi, S. (1991). *Analisis kimia produk lebah madu dan pelatihan staf laboratorium pusat perlebaran nasional Parung Panjang*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor.
- Adji Suranto (2007). *Terapi Madu*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 26-40.
- Adji, Suranto (2004). *Khasiat dan Manfaat madu Herbal*. Agromedia Pustaka Jakarta.
- Ai, 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
- Al Fady, M.F., (2015). *Madu dan Luka Diabetik*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Amalia, L. (2016). Karakterisasi Fisikokimia Madu Multiflora Asal Riau Serta Efektifitasnya Terhadap *Escherechia coli* dan *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Anendra YC. (2010). *Aktivitas Apis Cerana Mencari Polen, Identifikasi Polen, Dan Kompetisi Menggunakan Sumber Pakan Dengan Apis mellifera*. [Tesis] Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Oddo, L. P. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S4-S17. DOI: 10.1051/apido: 2004047
- Codex alimentarius commission (2011). Fairtrade standard for honey for small producer organizations. Diunduh dari <http://www.fairtrade.net/standards.html> pada 17/08/2022.
- En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo, & Hua-Bin Li., (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes, Department of Nutrition, School of Public Health, Sun Yat-Sen, University, Guangzhou 510080, China.  
<https://doi.org/10.3390/ijms11020622Int>.  
*J. Mol. Sci.* 2010, 11(2), 622-646;
- Evahelda, Pratama, F., Malahayati, N., & Santoso, B. (2017). Sifat Fisik dan Kimia Madu dari Nektar Pohon Karet di Kabupaten Bangka Tengah, Indonesia Physical and Chemical Characteristics of Honey from Rubber Tree Nectar in Central Bangka Regency, Indonesia, 37(4), 363–368
- Fachrul, M. F. (2012). *Metode Sampling Bioekologi*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Gairola A, Tiwari P, & Tiwari JK. (2013). Physico-chemical properties of *Apis cerana-indica* f, honey from Uttarkashi district of Uttarakhand, India. *J. Global Biosci* 2 (1): 20 – 25
- Hadisoesilo, S. (2001). Keanekaragaman spesies lebah madu asli Indonesia. *Biodiversitas*, 2(1), 123-128.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71±79
- Kamal, A., Raza, S., Rashid, N., Hameed, T., Gilani, M., Qureshi, M. A., & Nasim, K. (2002). Comparative study of honey collected from different flora of Pakistan. *Online JB Sci*, 2, 626-627.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food chemistry*, 100(2), 526-534.
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83-91.
- Maharani, D. M., Yulianingsih, R., Dewi, S. R., Sugiarto, Y., & Indriani, D. W. (2014). Pengaruh penambahan natrium metabisulfit dan suhu pemasakan dengan menggunakan teknologi vakum terhadap kualitas gula merah tebu. *Agritech*, 34(4), 365-373.
- Mokusuli, Y. S. (2008). Aktivitas antioksidasi dan antikanker ekstrak kulit batang Langsung (*Lansium domesticum* L.). (Tesis). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Mokusuli, Y. S., (2013). Karakter Morfologi, Sumber Pakan, dan Bioaktivitas Farmakologis Racun Lebah Madu Endemik Sulawesi *Apis dorsata* Binghami DAN *Apis nigrocincta* Smith (HYMENOPTERA: APIDAE). (Disertasi). Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mokusuli, Y.S., Kaunang, E. S. N., & Manoppo, J. S. S., (2019). Kandungan Bioaktif Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah Madu *Apis Dorsata* Binghami Dari Sulawesi Utara, *Molekul*, 14(2), November 2019: 92 – 102.
- Mokusuli, Y.S., Kaunang, E. S. N., & Manoppo, J. S. S., (2019). Potensi Bioaktif dari *Apis Dorsata* binghami, Lebah Madu Endemik Sulawesi.
- Prasetyo, B. A. (2014). *Perbandingan mutu madu lebah Apis mellifera berdasarkan kandungan gula pereduksi dan non pereduksi di kawasan karet (Hevea brasiliensis) dan rambutan (Nephelium lappaceum)* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Putri NE, Aisman, & Novelina (2018). Madu buah sebagai alternatif pemanjangan umur simpan saat musim panen raya buah sawo (*Achras zapota* L.). Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Pertanian VII-Fakultas Pertanian UGM.
- Putri, N. E. (2017). Analisis Total Padatan Tak Larut Air dan Sifat Organoleptik Madu Sawo (*Achras zapota* L.). *JAGROS*:

- Jurnal Agroteknologi dan Sains (Journal of Agrotechnology Science)*, 2(1), 8-17.
- Qadar, S., Noor, A., & Maming. (2015). Karakteristik Fisika Kimia Madu Hutan Desa Terasa. *Jurnal Techno*, 4(2), 37–41.
- Qamer, S., Ahmad, F., Latif, F., Ali, S. S., & Shakoori, A. R. (2008). Physicochemical analysis of Apis dorsata honey from terai forests, Nepal. *Pakistan Journal of Zoology*. 40(1), 53–58.
- Raffiudin R. (2002). Honey bee behavioural evolution and itpr gene structure studies. [PhD Thesis]. James Cook University <http://eprints.jcu.edu.au/1249>.
- Sarwono, B. (2007). Lebah Madu. Jakarta: Agromedia Pustaka Press.
- Sihombing, D. T. H. (2005). Ilmu Ternak Lebah Madu. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Smith, F. G. (1965). The sucrose content of western Australian honey. *Journal of Apicultural Research*, 4 (3), 177–184. Doi: 10.1080 / 0021883 9.1965.11100120.
- Standar Nasional Indonesia (SNI) nomor SNI 01-3545-2013 tahun 2013 tentang Madu Standar Nasional Indonesia (SNI). (2018). Madu (SNI 8664-2018). Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Stankovic, M. S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 33(2011), 63-72.
- Sukmawati, S., Noor, A., & Firdaus, F. (2015). Quality Analysis of Honey Mallawa Parameters Based On Physical Chemistry. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 3(1), 259-262.
- Suranto, A., & Rahman, A. L. (2010). Dahsyatnya Propolis untuk Menggempur Penyakit. Jakarta Selatan: Agromedia Pustaka.
- Suranto, A. (2008). *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. Jakarta Selatan: Agromedia Pustaka.
- Wulansari, D. (2018). *Madu Sebagai Terapi Komplementer*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Zahra, N. N., Muliastari, H., Andayani, Y., & Sudarma, I. M. (2021). Karakteristik Fisikokimia Ekstrak Madu Dan Propolis Trigona Sp. Asal Lombok Utara. *Jurnal Agrotek Ummat*, 8(1), 7-14.