

**LAPORAN TAHUNAN
PENELITIAN HIBAH BERSAING**



**PENGEMBANGAN EKSTRAK FLAVONOID
MADU MONOFLORA SEBAGAI *INGREDIENT*
MINUMAN FUNGSIONAL TINGGI ANTIOKSIDAN**

Tahun ke-1 dari Rencana 2 Tahun

**Ketua/ Anggota Tim
Ichda Chayati, STP., M.P./ NIDN 0007067204
dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes./ NIDN 0525077401**

**Dibiayai oleh DIPA Direktorat Penelitian Pengabdian kepada Masyarakat
Nomor DIPA 023.04.1.673453/2015 tanggal 14 November 2014 DIPA
Revisi 01 tanggal 03 Maret 2015 Skim Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2015
Nomor: 062/SP2H/PL/DIT.LITABMAS/II/2015 Tanggal 5 Februari 2015**

**UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
NOVEMBER 2015**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pengembangan Ekstrak Flavonoid Madu Monoflora sebagai Ingredient Minuman Fungsional Tinggi Antioksidan

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : ICHDA CHAYATI
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Yogyakarta
NIDN : 0007067204
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Pendidikan Tata Boga
Nomor HP : 085291817100
Alamat surel (e-mail) : ichdac@gmail.com

Anggota (1)


Nama Lengkap : dr. ISNATIN MILADIYAH M.Kes.
NIDN : 0525077401
Perguruan Tinggi : Universitas Islam Indonesia
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 55.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 140.000.000,00

Mengetahui,
Dekan Fakultas Teknik UNY



(Dr. Moch. Bruri Triyono)
NIP/NIK 195602161986031003

Yogyakarta, 8 - 11 - 2015
Ketua,



(ICHDA CHAYATI)
NIP/NIK 197206072000122001

Menyetujui,
Ketua LPPM UNY



(Prof. Dr. Anik Ghufron)
NIP/NIK 196211111988031001

RINGKASAN

Beberapa tahun terakhir telah terlihat meningkatnya minat konsumen, industri makanan, dan peneliti ke pangan dan cara-cara yang dapat membantu menjaga kesehatan manusia, salah satunya minuman fungsional. Madu mempunyai aktivitas antioksidan yang signifikan yang berkorelasi kuat dengan kandungan flavonoidnya dari berbagai sumber bunga, sehingga madu sangat potensial sebagai bahan baku minuman fungsional. Namun sampai saat ini belum ada minuman fungsional yang *ingredient*-nya flavonoid dari madu.

Penelitian tahun pertama bertujuan untuk mengetahui: 1) kadar flavonoid total, 2) aktivitas antioksidan metode DPPH, 3) kapasitas antioksidan metode FRAP, 4) hubungan kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan metode DPPH, 5) hubungan kadar flavonoid total dengan kapasitas antioksidan metode FRAP, 6) hubungan aktivitas antioksidan metode DPPH dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari beberapa jenis madu monoflora, dan 7) proses pembuatan ekstrak flavonoid dari madu monoflora terbaik.

Bahan baku madu didapat dari peternak lebah di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah. Analisis kadar flavonoid total menurut metode Al dkk (2009) dan analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (diphenyl-1-picryl hydrazyl) menurut Hussein dkk (2011), dan kapasitas antioksidan metode FRAP dilakukan menurut metode Aljadi & Kamaruddin, (2004). Analisis data dilakukan dengan anava dan dilanjutkan dengan DMRT untuk mengetahui perbedaan antar sampel. Hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan, kadar flavonoid total dengan kapasitas antioksidan, dan aktivitas antioksidan dan kapasitas antioksidan madu monoflora dihitung dengan regresi sederhana untuk mengetahui nilai korelasinya. Setelah diketahui madu monoflora yang terbaik, selanjutnya dibuat ekstrak flavonoid madu terbaik tersebut menurut metode (Rizzardini, 2009).

Hasil penelitian menunjukkan 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) kapasitas antioksidan metode FRAP madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra berturut-turut adalah 1246, 1298, 1807, 1614, dan 5386 $\mu\text{M Fe(II)}$, 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 aktivitas antioksidan dan kapasitas antioksidan madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,996.

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Laporan Tahunan Penelitian Hibah Bersaing dengan judul “Pengembangan Ekstrak Flavonoid Madu Monoflora sebagai Ingredient Minuman Fungsional Tinggi Antioksidan”.

Pelaksanaan penelitian ini tidak terlepas dari bantuan beberapa pihak, sehingga tim peneliti mengucapkan tarima kasih kepada :

1. Direktur Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat yang telah memberikan dana sehingga penelitian ini dapat berlangsung.
2. Prof. Dr. Anik Ghufron, M.Pd. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat UNY yang telah memberikan fasilitas sehingga penelitian dapat berlangsung.
3. Dr. Moch. Bruri Triyono, Dekan Fakultas Teknik UNY yang telah membantu kelancaran penelitian.
4. Andian Ari Anggraeni, M.Sc., Koordinator Laboratorium Kimia Jurusan Pendidikan Teknik Boga dan Busana yang memberikan fasilitas laboratorium
5. Rekan-rekan dosen, teknisi, dan mahasiswa yang telah membantu pelaksanaan sehingga penelitian ini bisa berjalan dengan lancar dan sukses.
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga laporan kemajuan ini bisa memberikan manfaat kepada yang membutuhkan. Kritik dan saran demi perbaikan laporan kemajuan dan demi pengembangan ilmu sangat kami harapkan.

Yogyakarta, November 2015

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul	0
Halaman Pengesahan	1
Ringkasan	2
Prakata	3
Daftar Isi	4
Daftar	5
Tabel	
Daftar	6
Gambar	
Daftar	7
Lampiran	
Bab 1. Pendahuluan	8
Bab 2. Tinjauan Pustaka	11
Bab 3. Tujuan dan Manfaat	20
Penelitian	
Bab 4. Metode Penelitian	22
Bab 5. Hasil dan	30
Pembahasan	
Bab 6. Rencana Tahapan	37
Berikutnya	
Bab 7. Kesimpulan dan Saran	38
Daftar Pustaka	39
Lampiran-Lampiran	
- Prosiding Seminar	
- Draft artikel	
- Produk berupa ekstrak flavonoid madu monoflora	

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 1. Langkah penelitian dan indikator pencapaian penelitian tahap I	22
.....	
Tabel 2. Kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora	30
.....	
Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Beberapa Jenis Madu	
Monoflora	31
.....	

Tabel 4. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP pada Beberapa Jenis Madu Monoflora	32
.....	
Tabel 5. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora	33
.....	
Tabel 6. Hubungan kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora	35
.....	
Tabel 7. Aktivitas antioksidan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP pada madu monoflora	36
.....	

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Kadar fenolat total empat jenis madu	17
Gambar 2. Uji aktivitas antioksidan empat jenis madu dengan metode penghambatan DPPH	17
Gambar 3. <i>Roadmap</i> penelitian	19
Gambar 4. Alur penelitian	24
Gambar 5. Histogram kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora	30
Gambar 6. Histogram aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora	31
Gambar 7. Kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora	32
Gambar 8. Grafik hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora dengan nilai $r=0,922$	33
Gambar 9. Grafik hubungan kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora	35
Gambar 10. Grafik hubungan aktivitas antioksidan DPPH dengan kapasitas antioksidan FRAP madu monoflora dengan nilai $r= 0,996$	36
Gambar 11. Skema penelitian tahun pertama dan kedua	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosiding seminar nasional

Lampiran 2. Draft artikel untuk jurnal nasional terakreditasi

Lampiran 3. Produk ekstrak flavonoid madu monoflora

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

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 unsurnya 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.

B. Urgensi (Keutamaan) Penelitian

Madu mentah mempunyai kemampuan anti-virus, anti-bakteri, dan anti-jamur. Madu meningkatkan kesehatan tubuh dan pencernaan, karena merupakan antioksidan kuat, memperkuat sistem kekebalan tubuh, menghilangkan alergi, dan merupakan obat yang sangat baik untuk luka kulit dan semua jenis infeksi. Madu juga dapat menstabilkan tekanan darah, menyeimbangkan kadar gula, mengurangi rasa sakit, menenangkan saraf, dan telah digunakan untuk mengobati bisul. Madu juga merupakan ekspektoran dan anti-inflamasi dan telah dikenal secara efektif mengobati kondisi pernafasan seperti bronkitis dan asma (May, 2012).

Tingkat konsumsi madu perkapita Indonesia masih rendah, yaitu sekitar 10 s/d 15 gram/orang/th atau hanya setara dengan satu sendok makan per orang per tahun. Sebagai pembandingan konsumsi madu di negara – negara maju seperti Jepang dan Australia telah mencapai kisaran 1.200 s/d 1.500 gram/ orang/ th (Novandra dan Widnyana, 2013). Konsumsi madu per kapita per tahun di beberapa negara Eropa tengah, misalnya Austria, Jerman dan Swiss juga melebihi satu kilogram (Bradbear, 2009).

Publikasi madu Indonesia yang berkaitan dengan aktivitas antioksidannya masih kurang, terbukti dengan sulitnya mencari referensi sifat antioksidan madu yang berasal dari Indonesia. Dengan penelitian ini maka diharapkan **tambahan publikasi manfaat madu Indonesia sehingga menambah referensi tentang madu Indonesia.**

Dengan publikasi manfaat madu Indonesia ini maka diharapkan **konsumsi madu Indonesia bisa meningkat sehingga akan meningkatkan konsumsi madu per kapita, memberikan manfaat bagi peningkatan kesejahteraan peternak lebah yang memproduksi madu, dan pada akhirnya akan terjadi peningkatan status kesehatan masyarakat Indonesia.**

Minuman fungsional (*functional beverages*) adalah salah satu dari empat produk terbesar di pasar makanan fungsional, bersama dengan *baked goods* dan sereal, lemak dan minyak, serta susu (Cooper, 2011). Sektor minuman fungsional adalah subsektor industri makanan dan minuman non-alkohol fungsional dan merupakan sektor yang paling cepat berkembang. Pertumbuhan yang cepat ini sebagian karena kombinasi antara kejenuhan sektor *softdrink* berkarbonasi dan investasi besar yang dilakukan oleh industri makanan dan minuman skala besar (Scholan, 2007). Dengan penelitian ini akan **menambah jenis ekstrak bioaktif yang ada di pasaran, terutama ekstrak antioksidan, baik dalam bentuk cair maupun bubuk. Ekstrak flavonoid tersebut selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai *ingredient* minuman fungsional yang tinggi antioksidan sehingga industri pangan mempunyai alternatif bahan baku minuman fungsional dan selanjutnya masyarakat mempunyai alternatif dalam mengkonsumsi minuman yang memberikan manfaat bagi kesehatan.**

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *State of the art* dalam bidang yang diteliti

Analisis aktivitas antioksidan ada berbagai macam, dengan DPPH (α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl), FRAP (Ferric reducing antioxidant power), TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), ORAC (Oxygen radical antioxidant capacity), ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), TBA (Thiobarbituric acid) dan lain-lain untuk *in vitro*, maupun estimasi GSH (Reduced Glutathione), GSHPx (Glutathione peroxidase), metode SOD (Super oxide dismutase), CAT (catalase), GR (Glutathione reductase), LPO (Lipid peroxidation), dan lain-lain. Namun ada satu analisis aktivitas antioksidan *in vitro* baru yang lebih mendekati kenyataan pada saat pangan dikonsumsi yaitu CAA (*cellular antioxidant activity*) (Alam dkk, 2013). **Uji ini belum banyak digunakan, terutama dalam analisis aktivitas antioksidan di Indonesia.**

Salah satu jenis minuman fungsional adalah minuman yang mengandung antioksidan. Minuman fungsional antioksidan yang paling umum adalah kombinasi dari vitamin A, C, dan E. Minuman ini minuman yang ditujukan untuk menargetkan radikal bebas dalam tubuh. Tujuan utama dari antioksidan adalah untuk melawan radikal bebas yang bertanggung jawab dan terkait dengan banyak penyakit di dunia. Zinc merupakan mineral penting yang bekerja sebagai antioksidan dan bagian penting lebih dari 200 enzim yang terlibat dalam pencernaan, metabolisme, reproduksi dan penyembuhan luka. Antioksidan dapat digunakan dalam minuman untuk membantu meningkatkan kekebalan tubuh, meningkatkan sirkulasi dan mempertajam mental (Fortitech, 2011). **Dengan selesainya penelitian ini maka akan didapat tambahan sumber *ingredient* bagi industri minuman fungsional, yaitu ekstrak flavonoid madu yang bisa menjadi *ingredient* minuman fungsional tinggi antioksidan.**

B. Kajian Pustaka

1. Madu

Madu berasal dari nektar bunga yang dikumpulkan oleh lebah madu. Madu merupakan gula invert – campuran glukosa dan fruktosa – yang terlarut dalam 14-20% air dengan sejumlah kecil asam-asam organik, mineral, dan vitamin (Ensminger dkk., 1995). Madu adalah bahan pangan yang mempunyai sifat awet karena kadar airnya rendah dan mempunyai rasa manis karena kandungan utamanya adalah glukosa dan fruktosa. Menurut National Honey Board (2007), tingkat rasa manis madu lebih tinggi daripada gula.

Madu memiliki sejarah panjang dalam konsumsi manusia, dan paling sering dikonsumsi dalam keadaan belum diolah (yaitu dalam keadaan cair, kristal atau dalam sarang lebahnya). Madu bisa digunakan sebagai obat, dimakan sebagai makanan, atau dimasukkan sebagai aditif dalam berbagai makanan dan minuman. Warna dan rasa madu berbeda tergantung pada sumber nektar (bunga), kondisi umur, dan penyimpanan. Secara umum, madu berwarna gelap lebih sering digunakan untuk tujuan komersial skala besar, sedangkan madu berwarna lebih muda dipasarkan untuk konsumsi langsung dan permintaan harga premium dibandingkan yang berwarna lebih gelap. Madu yang dibuat dari nektar yang berasal dari satu jenis bunga disebut madu monoflora, sedangkan madu yang terbuat dari berbagai jenis bunga disebut madu poliflora. Madu monoflora biasanya memiliki nilai tinggi di pasar karena rasa yang khas, dan termasuk varietas terkenal (USAID, 2012).

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 telah dilaporkan ada dalam 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).

Dalam tradisi kuno, madu telah digunakan tidak hanya sebagai gizi tetapi juga sebagai obat. Selama dekade terakhir, penggunaan madu untuk tujuan terapeutik telah dievaluasi kembali secara lebih ilmiah dan beberapa sifat telah diidentifikasi, yaitu sebagai antibakteri, antijamur, dan efek anti-inflamasi serta stimulasi luka dan penyembuhan luka bakar. Madu juga mempunyai aktivitas antioksidan yang signifikan, studi terbaru menunjukkan korelasi yang kuat antara kandungan senyawa fenolik dalam madu dari berbagai sumber bunga dan kapasitas antioksidannya. Flavonoid merupakan komponen fungsional utama dari madu dan secara signifikan dapat berkontribusi terhadap total aktivitas antioksidan dan efek yang menguntungkan dalam kesehatan manusia (Blasa, dkk. 2007).

Madu merupakan bagian dari obat tradisional di banyak kebudayaan, meskipun paling banyak digunakan sebagai pemanis. Madu mengandung setidaknya 181 komponen dan pada dasarnya merupakan larutan gula jenuh. Fruktosa (38%) dan glukosa (31%) adalah komponen paling penting, kadar air sekitar 17,7%, keasaman total 0,08%, dan abu merupakan 0,18%. Selain itu, ada berbagai macam komponen minor, termasuk asam fenolik dan flavonoid, oksidase glukosa dan enzim katalase, asam askorbat, karotenoid, asam organik, asam amino, protein, dan α -tokoferol. Komposisi aktual madu bervariasi, tergantung pada banyak faktor seperti sumber serbuk sari, iklim, kondisi lingkungan, dan pengolahan (Viuda-Martos, dkk, 2008).

Asal botanik setiap madu ditentukan melalui proses pemisahan serbuk sari dengan sentrifugasi dan pewarnaan *posterior* dan pengamatan di bawah mikroskop cahaya. Data dihitung secara statistik. Dengan metode ini, madu dianggap monoflora jika lebih dari 50% dari serbuk sari

yang ada dalam madu sesuai dengan salah satu spesies tanaman tunggal (Rizardini, 2009).

2. Antioksidan

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

Wolfe dan Liu mengembangkan uji aktivitas antioksidan seluler (*cellular antioxidant activity*=CAA) untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak makanan dan suplemen makanan. Mereka menggunakan hepatocarcinoma manusia (sel HepG2) yang sarat dengan sensor redoks dihydrodichlorofluorescein (DCFH₂) yang mudah teroksidasi menjadi diklorofluorescein DCF yang berfluoresens oleh adanya ROO• (dari dekomposisi AAPH). Metode tersebut mengukur kemampuan senyawa untuk mencegah oksidasi intraseluler DCFH₂ yang dapat diikuti oleh fluoresensi (λ_{exc} = 485 nm, λ_{em} = 535 nm) dan hasilnya dinyatakan dalam mol equivalen quercetin. Uji CAA adalah alat penting untuk skrining aktivitas antioksidan dalam ekstrak produk alami yang mengevaluasi potensinya untuk mengerahkan respon antioksidan pada tingkat sel, bukan hanya kapasitasnya sebagai agen pereduksi (Lopez-Alarcon dan Denicola, 2012).

Jenis sel yang berbeda telah digunakan untuk uji CAA selain HepG2, termasuk Caco-2 matang sel-sel usus dibedakan, lini sel adenokarsinoma lambung manusia AGS dengan sifat proliferasi yang cepat, sel-sel endotel vaskular EA.hy926, garis sel makrofag manusia U937, fibroblast paru-paru manusia (WI38, AKB-90). Salah satu yang menarik adalah eritrosit, karena mudah tersedia dan pengujian potensi

perlindungan sel darah merah (RBC) secara biologis relevan, dengan pertimbangan RBC memainkan peran penting dalam mengurangi stress oksidatif dalam pembuluh darah (Lopez-Alarcon dan Denicola, 2012).

3. Flavonoid

Flavonoid dalam madu dibagi dalam tiga kelas dengan struktur yang mirip yaitu: flavonol, flavon dan flavanon. Flavonoid dianggap penting karena kontribusinya terhadap warna madu, rasa dan aroma dan juga karena efek menguntungkan terhadap kesehatan. Selain itu, komposisi flavonoid dan kapasitas antioksidan madu tergantung pada faktor sumber bunga yang dominan yang digunakan untuk mengumpulkan madu dan tergantung musim dan lingkungan (Estevinho, dkk. 2008).

4. Pangan dan minuman fungsional

Beberapa tahun terakhir telah terlihat meningkatnya minat konsumen, industri makanan, dan peneliti ke pangan dan cara-cara yang dapat membantu menjaga kesehatan manusia. Peran penting diet dalam mencegah dan mengobati penyakit secara luas sudah dapat diterima. Konsep dasar gizi sedang mengalami perubahan signifikan. Konsep klasik "nutrisi yang cukup", yaitu diet yang menyediakan nutrisi (karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral) dalam jumlah yang cukup untuk memenuhi kebutuhan, cenderung digantikan oleh konsep "gizi optimal", yang meliputi selain di atas, juga potensi pangan untuk meningkatkan kesehatan dan mengurangi risiko berkembangnya penyakit tertentu, di sinilah peran pangan fungsional, yang juga dikenal sebagai *nutraceuticals*, pangan yang dirancang (*designed foods*), pangan untuk terapi (*therapeutic foods*), pangan super (*super foods*), atau pangan sebagai obat (*medicinal foods*) (Viuda-Martos, dkk, 2008).

Makanan fungsional merupakan bidang yang muncul dalam ilmu pangan karena meningkatnya popularitas yang disebabkan oleh konsumen yang sadar kesehatan dan kemampuan pemasar untuk menciptakan minat

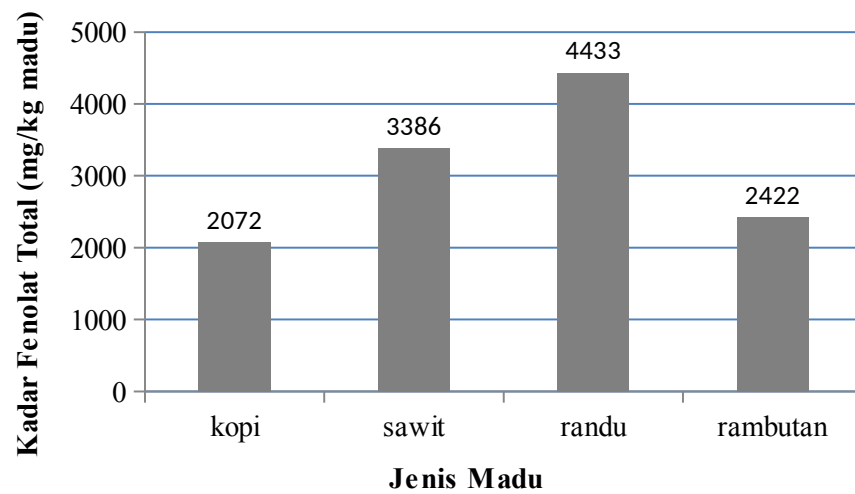
baru. Istilah ini pertama kali digunakan di Jepang pada 1980-an di mana ada proses persetujuan pemerintah untuk makanan fungsional yang disebut *Foods for Specified Health Use* (FOSHU) (Scholan, 2007).

Konsep pangan fungsional bersifat kompleks karena mencakup banyak aspek yang berbeda: misalnya, istilah ini dapat merujuk kepada pangan yang diperoleh dengan prosedur apapun, dengan karakteristik tertentu yang setidaknya satu komponen, dengan atau tanpa nutrisi dalam dirinya sendiri, mempengaruhi target fungsi organisme, sehingga secara positif dan secara khusus memberikan efek fisiologis atau psikologis atas dan di atas nilai nutrisi tradisional. Efek positif ini mungkin timbul dari kontribusi terhadap pemeliharaan kesehatan, seperti mengurangi risiko menderita penyakit tertentu (Viuda-Martos, dkk, 2008).

Pangan fungsional adalah makanan di mana bahan baru telah ditambahkan ke dalamnya dan produk baru tersebut memiliki fungsi baru (sering berkaitan dengan promosi kesehatan atau pencegahan penyakit). Kategori umum dari pangan fungsional termasuk makanan olahan atau makanan yang diperkaya dengan aditif untuk mempromosikan kesehatan, seperti produk "diperkaya vitamin" (Scholan, 2007).

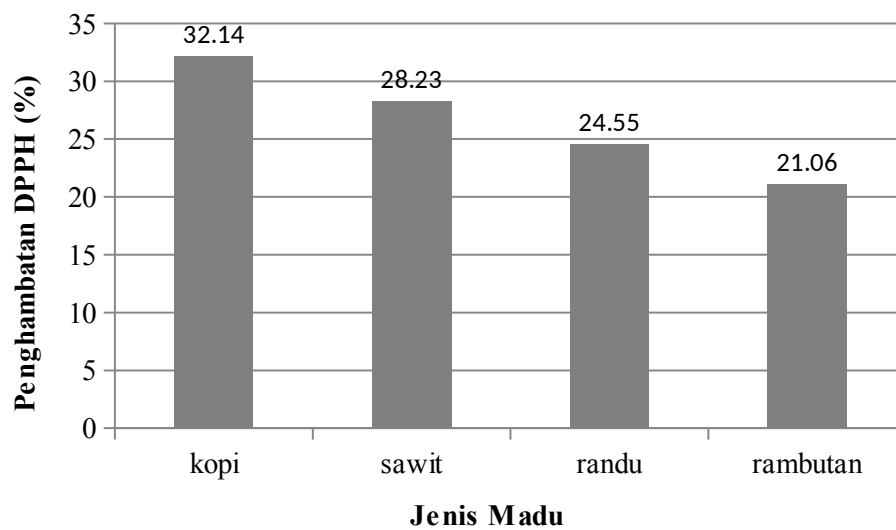
C. Studi pendahuluan dan hasil yang dicapai

Penelitian yang dilakukan oleh Chayati (2007) mendapatkan hasil kadar fenolat total dalam empat jenis madu, yang bisa dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kadar fenolat total empat jenis madu

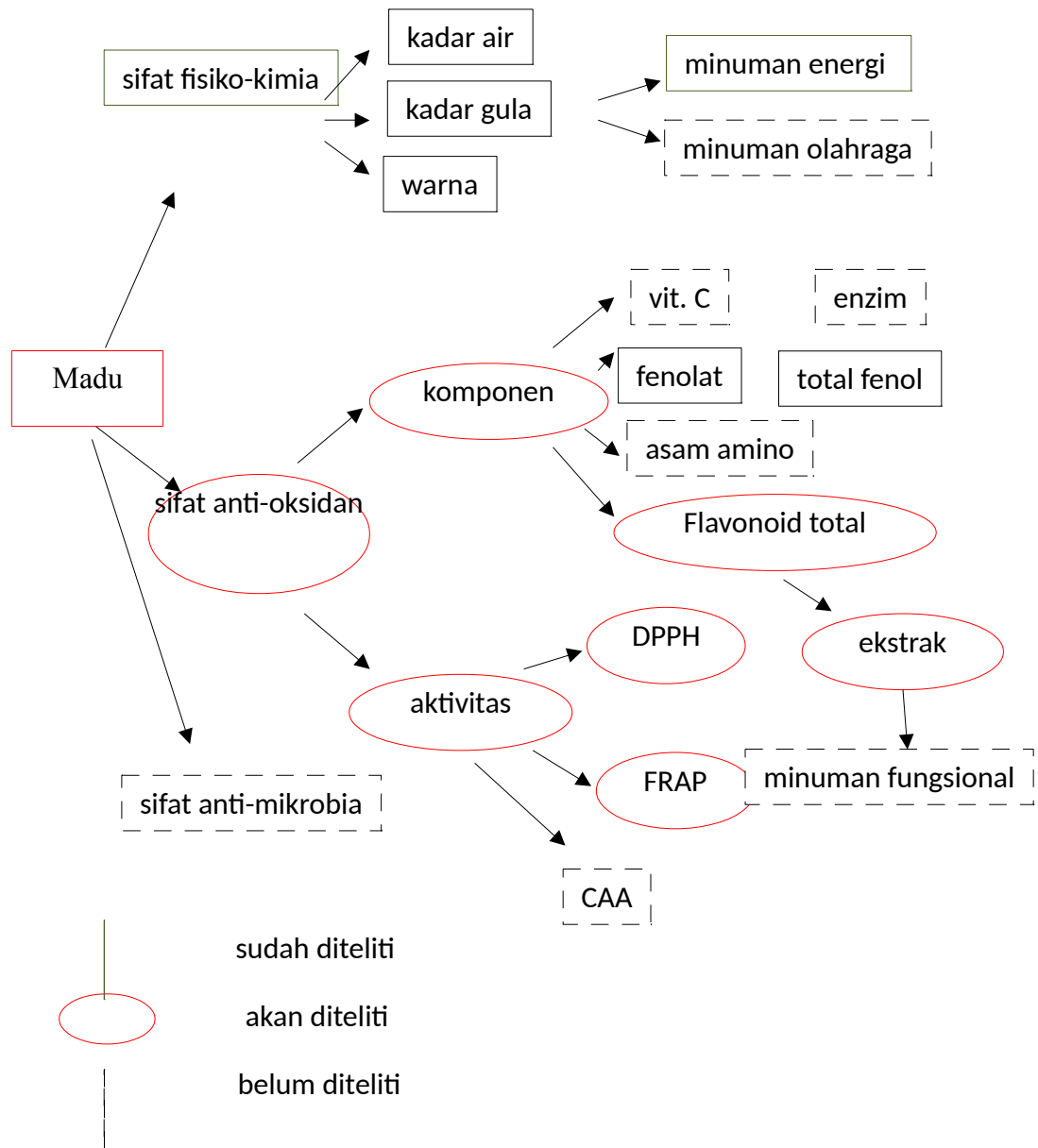
Sementara dalam penelitian lain, Chayati dan Miladiyah (2009) menguji aktivitas antioksidan empat jenis madu menggunakan metode DPPH dengan mendapatkan hasil yang bisa dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji aktivitas antioksidan empat jenis madu dengan metode penghambatan DPPH

D. Roadmap penelitian

Penelitian ini adalah penelitian lanjutan dari beberapa penelitian sebelumnya yang telah penulis lakukan. Madu monoflora yang menjadi materi utama dalam beberapa penelitian, telah diteliti sifat fisikokimianya dan sifat antioksidannya, sedangkan yang belum dipelajari adalah sifat antimikrobianya. Sifat antioksidan madu ditentukan oleh berbagai macam hal, misalnya vitamin C, komponen flavonoid, enzim, asam amino, dan lain-lain. Penelitian ini akan mengetahui hubungan flavonoid dengan aktivitas antioksidan madu. Salah satu aplikasi dari sifat antioksidan madu adalah sebagai minuman fungsional tinggi antioksidan yang bisa digunakan sebagai minuman kecantikan dan kesehatan, dan juga sebagai bahan pengawet bersama sifat antimikrobia madu. Secara keseluruhan, *roadmap* penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Roadmap penelitian

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Khusus

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui madu monoflora terbaik dari kadar flavonoid dan aktivitas antioksidannya, serta 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

B. Manfaat Penelitian

Dengan berakhirnya penelitian ini, maka diharapkan akan diperoleh:

1. Data kadar flavonoid total madu monoflora
2. Data aktivitas antioksidan metode DPPH dari madu monoflora
3. Data kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
4. Data hubungan kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan metode DPPH dari madu monoflora
5. Data hubungan kadar flavonoid total dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
6. Data hubungan aktivitas antioksidan metode DPPH dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
7. Teknologi pembuatan ekstrak flavonoid madu berbentuk cair
8. Ekstrak flavonoid madu berbentuk cair
9. Satu buah artikel untuk jurnal terakreditasi nasional
10. Satu buah artikel untuk diseminarkan

BAB IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat Penelitian

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

B. 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.

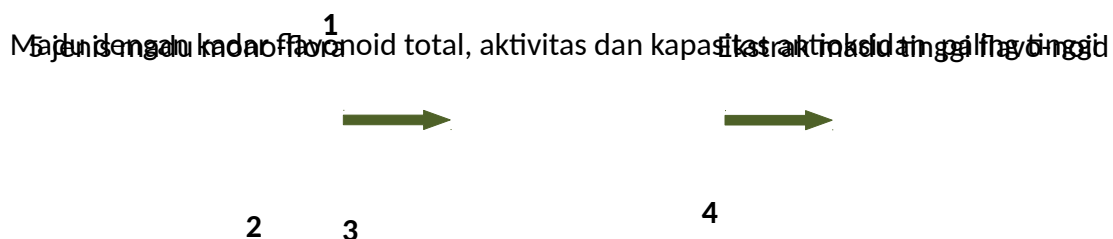
C. Alur Penelitian

Indikator penelitian pada tahun pertama bisa dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Langkah penelitian dan indikator pencapaian penelitian tahap I

Langkah Penelitian	Indikator
1. Uji kadar flavonoid total 5 jenis madu monoflora	Diperoleh data kadar flavonoid total 5 jenis madu monoflora
2. Analisis aktivitas antioksidan metode DPPH 5 jenis madu monoflora	Diperoleh data aktivitas antioksidan DPPH 5 jenis madu monoflora
3. Analisis kapasitas antioksidan metode FRAP 5 jenis madu monoflora	Diperoleh data kapasitas antioksidan FRAP 5 jenis madu monoflora
4. Korelasi kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH dari 5 jenis madu monoflora	Diperoleh data korelasi kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH dari 5 jenis madu monoflora
5. Korelasi kadar flavonoid total	Diperoleh data korelasi kadar flavonoid total

Langkah Penelitian	Indikator
dan kapasitas antioksidan metode FRAP dari 5 jenis madu monoflora	dan kapasitas antioksidan metode FRAP dari 5 jenis madu monoflora
6. Korelasi aktivitas antioksidan metode DPPH dan kapasitas antioksidan metode FRAP dari 5 jenis madu monoflora	Diperoleh data korelasi aktivitas antioksidan metode DPPH dan kapasitas antioksidan metode FRAP dari 5 jenis madu monoflora
7. Pembuatan ekstrak flavonoid madu monoflora terbaik	Rendemen ekstrak flavonoid madu monoflora (kadar flavonoid total, aktivitas antioksidan DPPH, kapasitas antioksidan FRAP)
8. Output	1) kadar flavonoid total 6 jenis madu monoflora, 2) aktivitas antioksidan DPPH 6 jenis madu monoflora, 3) kapasitas antioksidan FRAP 6 jenis madu monoflora, 4) korelasi kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH dari 6 jenis madu monoflora, 5) korelasi kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP, 6) korelasi aktivitas antioksidan metode DPPH dan kapasitas antioksidan metode FRAP dari 6 jenis madu monoflora, 7) teknologi pembuatan ekstrak flavonoid madu monoflora berbentuk cair, 8) ekstrak flavonoid madu monoflora berbentuk cair, 9) satu artikel jurnal terakreditasi nasional, 10) satu artikel yang diseminarkan



Analisis kadar flavonoid total

Analisis aktivitas antioksidan metode DPPH

Aktivitas antioksidan metode FRAP

Pembuatan ekstrak flavonoid madu monoflora terbaik berbentuk cair

Gambar 4. Alur penelitian

1. Analisis Kadar Flavonoid Total

Satu mililiter sampel madu dalam air (0,1-0,4 g/ml) dicampur dengan 1 ml aluminium chloride 2% dalam metanol. Setelah didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang, absorbansi diiterapkan pada panjang gelombang 430 nm. Standar menggunakan konsentrasi quercetin berbeda-beda antara 5-114 µg/ ml. Kadar flavonoid dinyatakan dalam mg quercetin equivalent (RE) per 100 gram (Al dkk, 2009).

2. Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Larutan madu (0,75 ml, konsentrasi 0,1-0,4 g/ml) dicampur dengan 1,5 ml larutan DPPH dalam metanol 0,09 mg/ml. Campuran didiamkan 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap dan selanjutnya diiterapkan absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan sampel dihitung dengan rumus: Antiradical activity (%) = $[(Ac - As) / Ac] \times 100$

Dimana A_c adalah absorbansi kontrol dan A_s adalah absorbansi sampel (Hussein dkk, 2011).

3. Analisis Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Penelitian ini menggunakan pengujian ferric reducing/ antioxidant power (FRAP), yang dikembangkan oleh Benzie dan Strain (1996) dan dimodifikasi oleh peneliti yang sama (1999), sebagai metode langsung untuk menentukan kekuatan antioksidan total dari cairan biologis. Pada pH rendah, reduksi kompleks ferric tripyridyltriazine (Fe-TPTZ) menjadi bentuk ferro, yang mempunyai warna biru yang intens, dapat diketahui dengan penentuan perubahan absorpsi pada panjang gelombang 593 nm. Reduksi bersifat non-spesifik, dimana pertengahan reaksi yang mempunyai potensi redoks yang lebih rendah, di bawah kondisi reaksi, daripada yang pertengahan reaksi berikutnya yang mengubah ferri (Fe(III)) menjadi ferro (Fe (II)). Secara ringkas, 300 ml reagen FRAP dimasukkan ke dalam tabung, tambahkan 10 μ l sampel madu (10%, 0,1 g/ ml), sampel ekstrak madu (0,25-4,0 mg/ ml), dan standar dengan kadar FeII yang diketahui (1000mM Fe SO₄.7H₂O, Merck) dimasukkan ke dalam tabung, dengan aquades 10 ml digunakan sebagai blanko. Tabung divortex dan diinkubasi pada 37°C selama 30 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm. Nilai absorbansi diubah menjadi nilai FRAP (mM) dengan rumus:

$$\frac{\Delta A_{593\text{nm}} \text{ test sample}}{\Delta A_{593\text{nm}} \text{ standard}} \times \text{FRAP value of standard (1000 } \mu\text{M)}$$

(Aljadi & Kamaruddin, 2004)

4. Produksi ekstrak madu dengan kandungan flavonoid tinggi

a. Prosedur persiapan dan penggunaan kolom Amberlite XAD-2

1) Prosedur pembasahan resin

Sebagian besar resin dalam keadaan basah. Meskipun demikian, ekspos ke udara dalam waktu lama selama pengiriman dan penyimpanan bisa menyebabkan

resin menjadi kering. Resin harus dibuat basah sebelum digunakan kecuali kalau aplikasi dengan sampel gas. Ikuti prosedur pembasahan resin berikut:

- a) Pindahkan resin kering ke dalam beaker glass 500 ml. Tambahkan sejumlah metanol sampai 2,5-5 cm di atas permukaan resin.
- b) Aduk resin pelan-pelan selama satu menit untuk memastikan pencampuran rata. Biarkan resin selama 15 menit.
- c) Buang metanol pelan-pelan dan ganti dengan aquades. Aduk campuran, kemudian biarkan selama 5-10 menit. Ikuti langkah preparasi kolom di bawah ini.

2) Persiapan kolom

Perhatikan, selalu gunakan resin terhidrasi saat persiapan kolom. Jika perlu, ikuti prosedur 1) di atas untuk membasahi resin, dan jangan biarkan resin mengering selama persiapan atau penggunaan berikutnya. Permukaan aquades atau metanol 2,5 cm di atas permukaan resin akan mencegah kekeringan resin dan akan mengurangi kekosongan dalam resin.

- a) Tambahkan sekitar 2,5 cm aquades pada kolom kosong sebelum penambahan resin slurry.
- b) Secara perlahan, masukkan resin slurry ke dalam kolom. Selama pengisian kolom, keluarkan air berlebih melalui bagian bawah kolom, tetapi jangan biarkan level cairan turun di bawah permukaan resin bed. Tambahkan resin secukupnya hanya sampai setengah tinggi kolom. Hal ini untuk mengantisipasi jika ekspansi jika resin mengembang jika diberi pelarut yang menyebabkan pengembangan resin.

3) Pencucian ulang

Prosedur ini menghilangkan gelembung udara, mengelompokkan partikel resin (menyebabkan terkelompok berdasarkan ukuran, partikel terkecil akan berada pada bagian atas kolom), dan menghilangkan pembentuk resin baru berukuran kecil. Sekitar 30 menit pencucian ulang biasanya sudah cukup untuk menyiapkan bed pada kolom baru.

Untuk kolom yang sedang digunakan, pencucian ulang menghilangkan pengotor yang terkumpul dalam bed. Biasanya, bed dicuci ulang SETELAH adsorbate teradsorpsi ke dalam resin, SEBELUM elusi adsorbate.

- a) Masukkan permukaan air pada bagian bawah kolom.

- b) Mulailan dengan gerakan aliran aquades ke atas dengan pelan. Dengan hati-hati, naikkan aliran sampai seluruh bed tersuspensi.
- c) Pertahankan aliran air sampai semua gelembung air hilang. Resin berukuran kecil akan keluar melalui bagian atas kolom.
- d) Hentikan aliran air dan biarkan resin sampai stabil.
- e) Atur level air sampai 2,5 cm atau lebih di atas permukaan resin bed.

4) Penentuan volume bed

Setelah kolom terisi, pencucian ulang, dan dibiarkan stabil, dan level cairan telah diatur, tentukan volume resin dalam kolom:

Volume silinder= $\pi \times (1/2 \text{ diametes dalam})^2 \times \text{panjang bed}$

Nilai ini disebut volume bed, sangat membantu untuk pengoperasian kolom yang tepat.

5) Pengisian resin

Proses memasukkan sampel melalui kolom, supaya komponen yang diinginkan terabsorbsi ke dalam resin, disebut dengan pengisian resin (loading the resin). Adsorpsi adalah gejala keseimbangan, dan adsorbate tidak bisa tersabsorbsi semua. Secara normal, kecepatan alir yang paling efektif untuk pengisian resin adalah dalam rentang 2-16 volume bed per jam. Kecepatan alir

6) Pemilihan larutan pengelusi

7) Keseimbangan

8) Kecepatan alir dan volume larutan

b. Produksi ekstrak madu dengan kandungan flavonoid tinggi berbentuk cair

- 1) 50 gr madu ditimbang
- 2) Madu selanjutnya dilarutkan dengan 100 ml air suling diasamkan dengan HCl (pH = 2)
- 3) Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml dan ditambahkan air asam sampai tanda
- 4) Larutan disaring dengan kapas dan dilewatkan kolom Amberlite TM XAD-2 resin (tinggi 250 mm diameter eksternal 20 mm), pada kecepatan aliran 2 ml/menit. Senyawa fenolik akan tertahan dalam kolom
- 5) Kolom dicuci dengan air asam 100 ml. Cairan dibuang
- 6) Kolom dicuci untuk kedua kalinya dengan 200 ml air suling netral. Cairan dibuang
- 7) Kolom dicuci untuk ketiga kalinya dengan 300 ml metanol murni. Methanol akan memisahkan komponen fenolik dalam kolom. Metanol dikumpulkan kembali dalam gelas atau erlenmeyer bersih dan dilewatkan ke 500 ml rotoevaporator
- 8) Larutan metanol diuapkan sampai kering dalam rotoevaporator pada 45°C (perkiraan waktu: 12 jam dengan kecepatan putaran tinggi)
- 9) Residu tersebut kembali disuspensikan dalam 5 ml air suling. 10. Suspensi dimasukkan ke dalam corong untuk dekantasi, dan 5 ml eter diethyllic. Fase ether dikumpulkan (fase berwarna lebih muda), dan diekstraksi lagi dua kali dengan 5 ml eter
- 10) Larutan ether diuapkan dalam rotoevaporator pada 45°C (perkiraan waktu : 1 jam dengan kecepatan putaran tinggi) (Rizzardini, 2009).

c. Produksi ekstrak madu dengan kandungan flavonoid tinggi berbentuk bubuk

- 1) Sampel sebanyak 260 ml ekstrak madu murni dalam bentuk cair, secara perlahan diaduk dengan 58 g maltodekstrin yang sebelumnya dilarutkan dalam 260 ml air demineralisasi. Sebagai contoh, maltodekstrin kentang dapat digunakan
- 2) Sebuah pompa peristaltik digunakan untuk memasukkan bahan ke dalam *spray dryer*, yang sebelumnya diatur suhu udara masuk 150°C. Kecepatan

memasukkan bahan disesuaikan untuk mendapatkan suhu lubang udara yang kurang dari 100°C. Didapat bubuk putih, dengan kelembaban 5,4% (Karl Fischer) dan kadar flavonoid tinggi (Mas & Mellado, 2013).

D. 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.

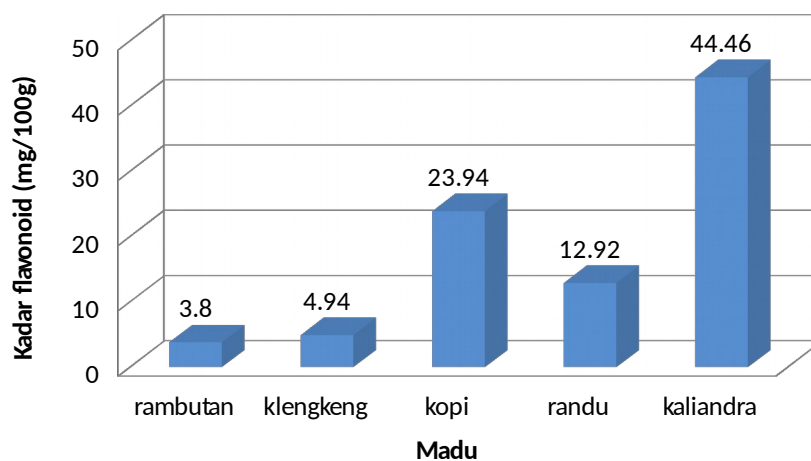
BAB V. HASIL YANG DICAPAI

1. Kadar Flavonoid Total Madu Monoflora

Hasil analisis kadar flavonoid total dari beberapa jenis madu monoflora yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 5.

Tabel 2. Kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora

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



Gambar 5. Histogram kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora

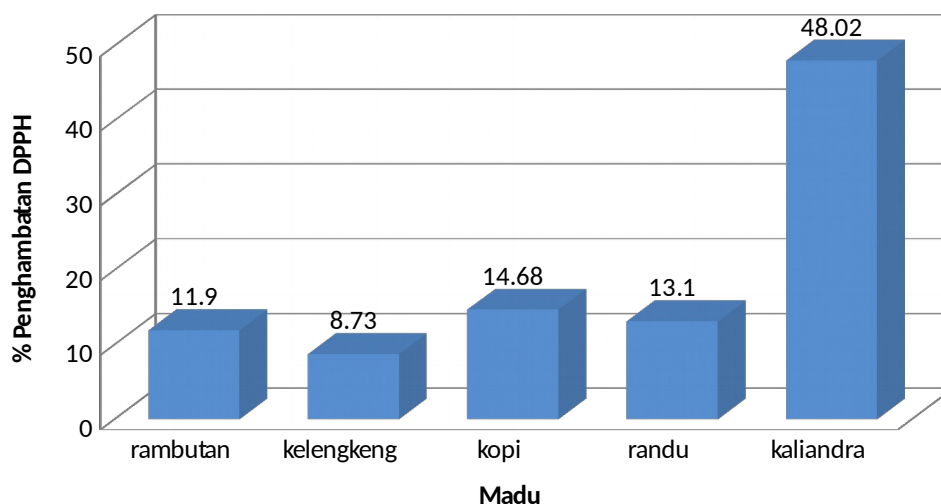
Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 5 dapat diketahui bahwa kadar flavonoid total tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra yaitu 33,46 mg/ 100 g, diikuti madu bunga kopi 23,94 mg/ 100 g, madu bunga randu 12,92 mg/ 100 g, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan rambutan masing-masing 4,94 dan 3,80 mg 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 3 dan Gambar 6.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Beberapa Jenis Madu Monoflora

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



Gambar 6. Histogram aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora

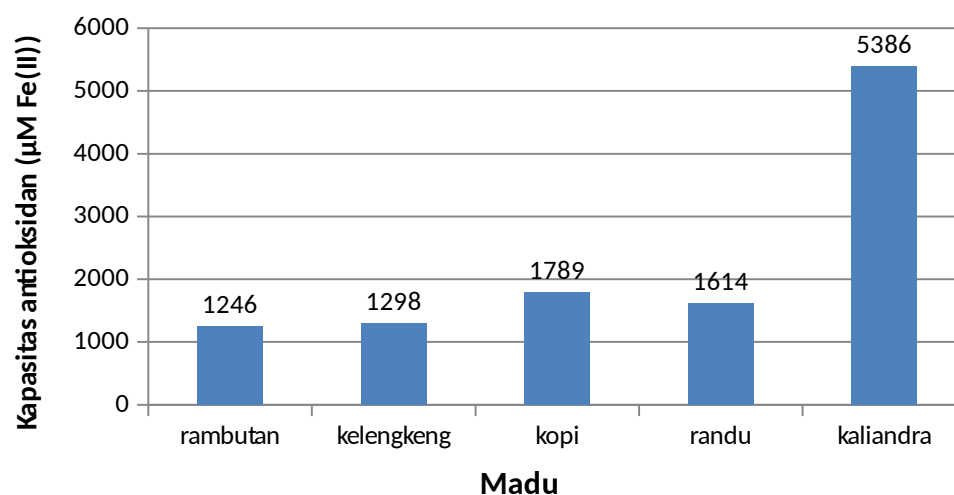
Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 6 dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan metode DPPH tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra dengan % penghambatan DPPH adalah 48%, diikuti madu bunga randu 13,1%, madu bunga rambutan 11,9%, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan kopi masing-masing 8,73 dan 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 4 dan Gambar 7.

Tabel 4. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP pada Beberapa Jenis Madu Monoflora

Jenis Madu Monoflora	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 7. Kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora

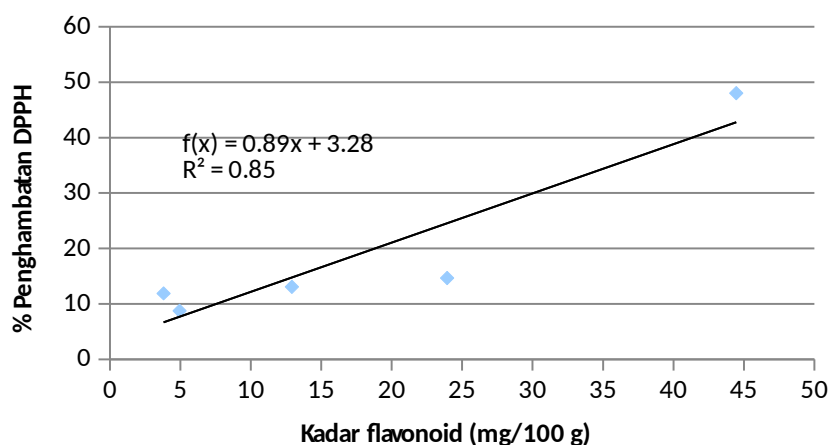
Dari Tabel 4 dan Gambar 7 dapat diketahui bahwa madu bunga kaliandra mempunyai kapasitas antioksidan paling tinggi sebesar $5386 \mu\text{M Fe (II)}$, diikuti oleh madu bunga kopi, randu, kelengkeng, dan rambutan dengan kapasitas antioksidan metode FRAP berturut-turut adalah 1789, 1614, 1298, dan $1246 \mu\text{M Fe (II)}$.

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 5 dan hasil regresinya dapat dilihat pada Gambar 8.

Tabel 5. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora

Jenis Madu Monoflora	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 8. Grafik hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora dengan nilai $r=0,922$

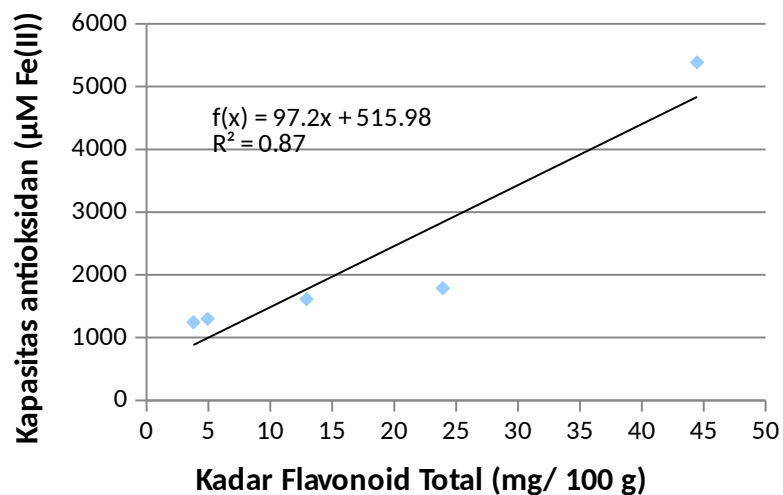
Berdasarkan Tabel 5 dan Gambar 8 dapat diketahui bahwa terdapat hubungan erat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH terbukti dengan nilai korelasi sebesar 0,922.

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 6 dan hasil regresinya terlihat pada Gambar 9.

Tabel 6. Hubungan kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora

Jenis Madu Monoflora	Kadar Flavonoid Total (mg/100g)	Kapasitas Antioksidan FRAP ($\mu\text{M Fe (II)}$)
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 9. Grafik hubungan kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan metode FRAP pada beberapa jenis madu monoflora

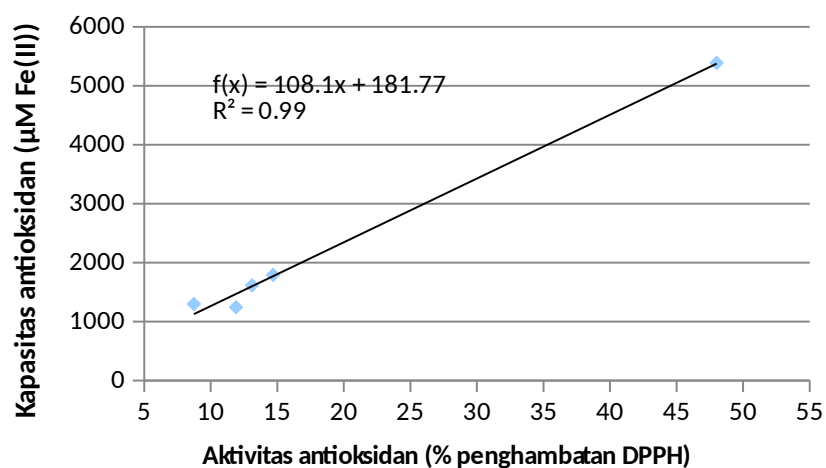
Berdasarkan Tabel 6 dan Gambar 9 dapat diketahui bahwa terdapat hubungan erat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH terbukti dengan nilai korelasi sebesar 0,931.

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 7 dan hasil regresi dan korelasinya dapat dilihat pada Gambar 10.

Tabel 7. Aktivitas antioksidan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP pada madu monoflora

Jenis Madu Monoflora	Aktivitas Antioksidan DPPH (penghambatan)	Kapasitas Antioksidan FRAP ($\mu\text{M Fe (II)}$)
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 10. Grafik hubungan aktivitas antioksidan DPPH dengan kapasitas antioksidan FRAP madu monoflora dengan nilai $r = 0,996$

BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Proposal tahun kedua merupakan penelitian lanjutan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Karakterisasi ekstrak flavonoid madu monoflora : rendemen kadar flavonoid total, aktivitas antioksidan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP dari ekstrak cair
2. Pembuatan ekstrak flavonoid madu monoflora berbentuk bubuk
3. Karakterisasi ekstrak flavonoid madu monoflora : rendemen kadar flavonoid total, aktivitas antioksidan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP dari ekstrak bubuk
4. Pembuatan minuman fungsional tinggi antioksidan dari ekstrak flavonoid madu monoflora

1,2,3

Gambar 11. Skema penelitian tahun pertama dan kedua

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

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. Kapasitas antioksidan metode FRAP madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra berturut-turut adalah 1246, 1298, 1807, 1614, dan 5386 $\mu\text{M Fe(II)}$.
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 aktivitas antioksidan dan kapasitas antioksidan madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,996

Saran

1. Perlu penelitian dengan sampel madu monoflora jenis yang lain sehingga memperkaya data tentang madu monoflora di Indonesia.
2. Perlunya dilakukan analisis aktivitas dan kapasitas antioksidan dengan metode lain sehingga bisa digunakan sebagai pembanding, misalnya analisis aktivitas antioksidan dengan metode ABTS, ORAC, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143-152.
- Blasa, M., Angelino, D., Gennari, L., & Ninfali, P. (2011). The cellular antioxidant activity in red blood cells (CAA-RBC): a new approach to bioavailability and synergy of phytochemicals and botanical extracts. *Food Chemistry*, 125(2), 685-691.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., & Piatti, E. (2007). Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. *Food chemistry*, 104(4), 1635-1640.
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774-3779.
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2012). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytical chimica acta*, 763(2013), 1-10.
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., Azlan, S. A. M., & Gan, S. H. (2013). Two-Year Variations of Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Contents in Acacia Honey. *Molecules*, 18(12), 14694-14710.
- May, L. (2012). *The Benefits of Raw Honey*. http://www.naturalnews.com/035493_raw_honey_health_benefits_antibacterial.html. Diakses tanggal 29 April 2014
- National Honey Board, 2007. *Conversion Chart*. www.nhb.org. Diakses tanggal 22 April 2014
- Novandra, A. dan Widnyana, I. M. (2013). *Peluang Pasar Produk Perlebahan Indonesia*. http://www.fordamof.org/files/PELUANG_PASAR_PRODUK_PERLEBAHAN_INDONESIA_SIA.pdf. Diakses tanggal 29 April 2014
- Scholan, I. "Functional Beverages-- where next? Innovation in functional beverages market is set to continue." *International Food Ingredients* December 2007.
- Tuberoso, C. I. G., Boban, M., Bifulco, E., Budimir, D., & Pirisi, F. M. (2012). Antioxidant capacity and vasodilatory properties of Mediterranean food: The case of Cannonau wine, myrtle berries liqueur and strawberry-tree honey. *Food chemistry*, 140(2013), 686-691.
- USAID. (2012). *The World Market for Honey, Market Survey #01*. http://www.fintrac.com/cpanelx_pu/Ethiopia%20CIAFS/12_06_4949_CIAFS%201%20Honey%20Final%20Oct%2011.pdf. Diakses tanggal 29 April 2014
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*, 73(9), R117-R124.

- Bradbear, N. (2009). Bees and their role in forest livelihoods: a guide to the services provided by bees and the sustainable harvesting, processing and marketing of their products. *Non-wood Forest Products*, (19).
- Cashin-Garbut, A. dan Mandall, A. (2012). *Oxidative Stress in Disease*. <http://www.news-medical.net/health/Oxidative-Stress-In-Disease.aspx>. Diakses tanggal 29 April 2014
- Chayati, I. 2008. Sifat Fisikokimia Madu Monoflora dari Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah. *Agritech*, 28 (1) : 9-14
- Chayati, I. dan Miladiyah, I. (2009). Studi Pembuatan Roti dan Cake Madu yang Tinggi Antioksidan untuk Mencegah dan Mengobati Penyakit Degeneratif. Laporan Penelitian Hibah Bersaing
- Cooper, B. (2011). Functional Drinks, Part I: Introduction and Overview. http://www.just-drinks.com/management-briefing/introduction-and-overview_id105304.aspx. Diakses tanggal 29 April 2014
- Ensminger, H.A., Ensminger, M.E., Konlande, J.E., dan Robson, J.R.K. 1995. *The Concise Encyclopedia of Foods and Nutrition*. Boca Raton, CRC Press
- Fortitech. (2011). New Innovations in Functional Beverages. http://www.fortitechpremises.com/wp-content/uploads/2012/06/Functional_Beverages_FINAL_ENG.pdf. Diakses tanggal 29 April 2014

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. PROSIDING SEMINAR**HUBUNGAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METODE DPPH PADA
BEBERAPA JENIS MADU MONOFLORA**

Ichda Chayati¹⁾
Isnatin Miladiyah²⁾

ichda_chayati@uny.ac.id atau ichdac@gmail.com

- 1) Jurusan PTBB Fakultas Teknik Universitas Negeri
Yogyakarta
- 2) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui: 1) kadar flavonoid total, 2) aktivitas antioksidan metode DPPH, dan 3) hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu monoflora, yaitu madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra.

Penelitian dilakukan sejak Mei 2015 sampai Oktober 2015 di Laboratorium Kimia Bahan Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada. Sampel yang digunakan adalah enam jenis madu monoflora, yaitu madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra. Analisis kadar flavonoid total menurut metode Al dkk (2009) dan analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (diphenyl-1-picryl hydrazyl) menurut Hussein dkk (2011). Analisis data dilakukan dengan anava dan dilanjutkan dengan DMRT untuk mengetahui perbedaan antar sampel. Hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu monoflora dihitung dengan korelasi.

Hasil penelitian menunjukkan 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 %, dan 3) terdapat hubungan antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,922.

Pendahuluan

Stres oksidatif adalah sumber dari berbagai penyakit kronis. Pengobatan penyakit tersebut dengan menggunakan madu telah banyak dilakukan dan hal ini dikaitkan dengan sifat antioksidannya (Mohamed dkk, 2010). 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 unsurnya 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.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui: 1) kadar flavonoid total, 2) aktivitas antioksidan metode DPPH, dan 3) hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu monoflora, yaitu madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra.

Metode Penelitian

1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan bulan Mei sampai Oktober 2015, di Laboratorium Kimia Bahan Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.

2. Sampel

Madu yang digunakan adalah madu kelengkeng, madu rambutan, madu randu, madu kopi, madu sawit, dan madu kaliandra. Madu bunga kopi dan kelengkeng diperoleh dari Ambarawa, madu rambutan dari Magelang, madu kaliandra dari Yogyakarta, madu randu dari Pati, dan madu sawit dari Sumatera. Madu berasal dari 2 kali panen (2 batch) dan kemudian dicampur sampai homogen. 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.

3. Metode Analisis

a. Analisis Kadar Flavonoid Total

Satu mililiter sampel madu dalam air (0,1-0,4 g/ml) dicampur dengan 1 ml aluminium chloride 2% dalam metanol. Setelah didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang, absorbansi ditera pada panjang gelombang 430 nm. Standar menggunakan konsentrasi quercetin berbeda-beda antara 5-114 µg/ ml. Kadar flavonoid dinyatakan dalam mg quercetin equivalent (RE) per 100 gram (Al dkk, 2009).

b. Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Larutan madu (0,75 ml, konsentrasi 0,1-0,4 g/ml) dicampur dengan 1,5 ml larutan DPPH dalam metanol 0,09 mg/ml. Campuran didiamkan 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap dan selanjutnya ditera absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{Antiradical activity (\%)} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

Dimana A_c adalah absorbansi kontrol dan A_s adalah absorbansi sampel (Hussein dkk, 2011).

4. Analisis Data

Data dinyatakan dalam rerata \pm standar deviasi dari tiga ulangan analisis. Analisis data dilakukan dengan anava dan dilanjutkan dengan DMRT untuk mengetahui perbedaan antar sampel. Hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu monoflora diketahui dengan membuat grafik hubungan kadar flavonoid total (sebagai sumbu x) dan aktivitas antioksidan metode DPPH (sebagai sumbu y) dan dihitung nilai korelasi atau r-nya.

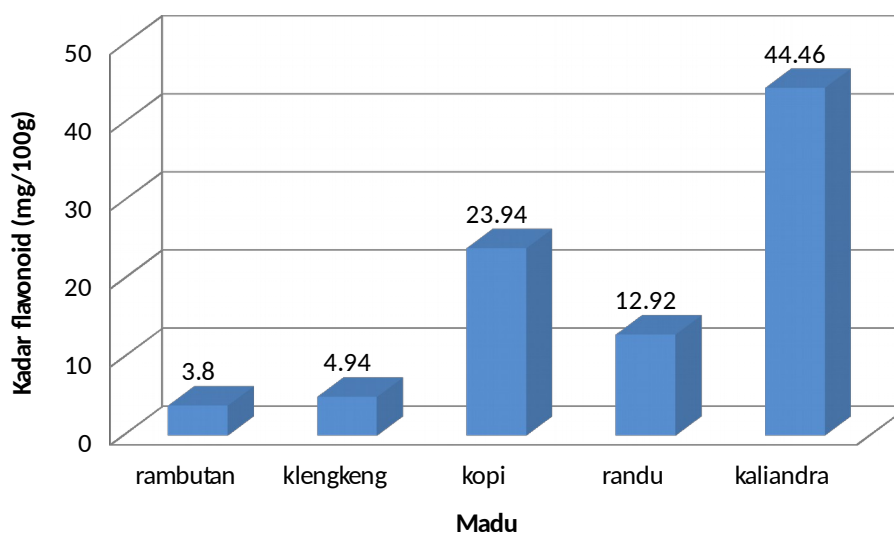
Hasil

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 ± 0,66
Bunga Kelengkeng	4,94 ± 0,66
Bunga Kopi	23,94 ± 1,14
Bunga Randu	12,92 ± 2,87
Bunga Kaliandra	33,46 ± 2,28



Gambar 1. Histogram kadar flavonoid total beberapa jenis madu monoflora

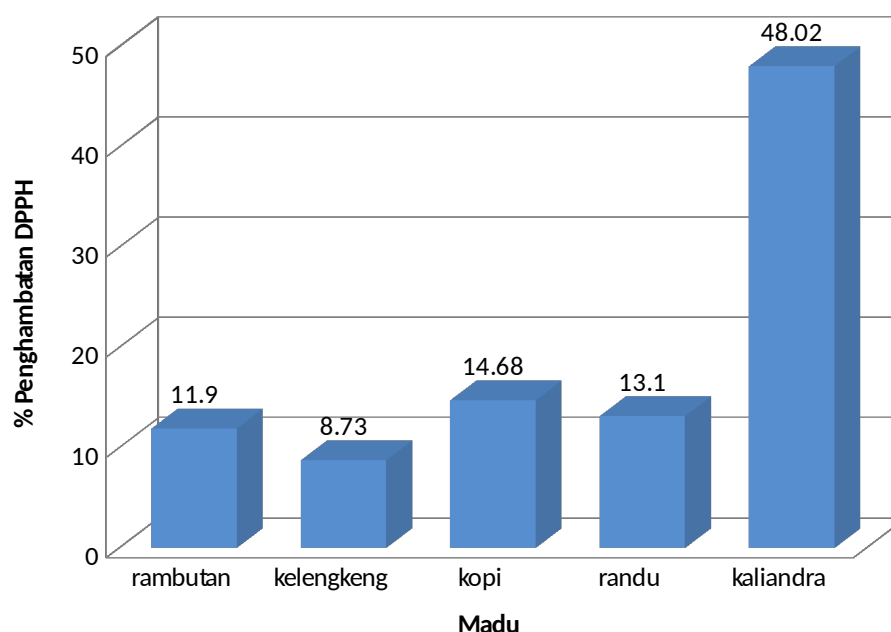
Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 1 dapat diketahui bahwa kadar flavonoid total tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra yaitu 33,46 mg/ 100 g, diikuti madu bunga kopi 23,94 mg/ 100 g, madu bunga randu 12,92 mg/ 100 g, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan rambutan masing-masing 4,94 dan 3,80 mg 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 Madu Monoflora	Aktivitas Antioksidan DPPH (% penghambatan)
Bunga Rambutan	11,90 ± 1,19
Bunga Kelengkeng	8,73 ± 0,69
Bunga Kopi	14,68 ± 1,37
Bunga Randu	13,10 ± 1,19
Bunga Kaliandra	48,02 ± 0,69



Gambar 2. Histogram aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora

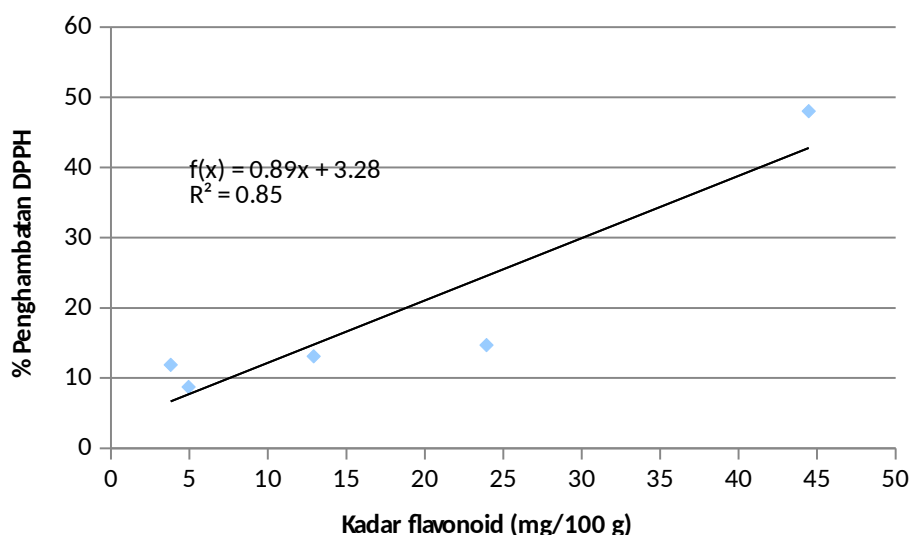
Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 3 dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan metode DPPH tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra dengan % penghambatan DPPH adalah 48%, diikuti madu bunga randu 13,1%, madu bunga rambutan 11,9%, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan kopi masing-masing 8,73 dan 5,56%.

3. Hubungan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH pada Madu Moflora

Hasil analisis korelasi kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Hubungan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada beberapa jenis madu monoflora

Jenis Madu Monoflora	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 3. 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.

Pembahasan

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.

Simpulan

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan 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. Terdapat hubungan antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan madu bunga rambutan, kelengkeng, kopi, randu, dan kaliandra dengan skor korelasi sebesar 0,922.

Saran

3. Perlu penelitian dengan sampel madu monoflora jenis yang lain sehingga memperkaya data tentang madu monoflora di Indonesia.
4. Perlunya dilakukan analisis aktivitas dan kapasitas antioksidan dengan metode lain sehingga bisa digunakan sebagai pembandingan, misalnya analisis aktivitas antioksidan dengan metode FRAP, ABTS, ORAC, dan lain-lain.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana penelitian melalui Skim Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2015 Nomor: 062/SP2H/PL/DIT.LITABMAS/II/2015 Tanggal 5 Februari 2015.

Daftar Pustaka

- 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
- Ensminger, H.A., Ensminger, M.E., Konlande, J.E., dan Robson, J.R.K. 1995. *The Concise Encyclopedia of Foods and Nutrition*. Boca Raton, CRC Press

- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774-3779.
- 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.

LAMPIRAN 2. DRAFT ARTIKEL

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 μM 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 mengonsumsi 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 :

8. Mengetahui kadar flavonoid total madu monoflora
9. Mengetahui aktivitas antioksidan metode DPPH dari madu monoflora
10. Mengetahui kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
11. Mengetahui hubungan kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan metode DPPH dari madu monoflora

12. Mengetahui hubungan kadar flavonoid total dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
13. Mengetahui hubungan aktivitas antioksidan metode DPPH dengan kapasitas antioksidan metode FRAP dari madu monoflora
14. 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.

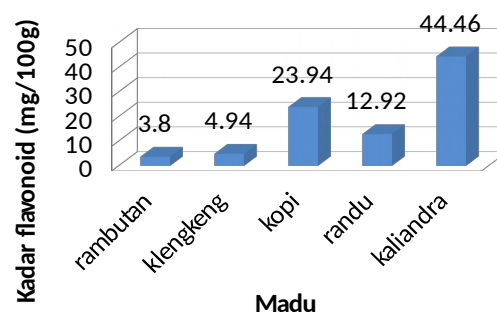
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

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 ± 0,66
Bunga Kelengkeng	4,94 ± 0,66
Bunga Kopi	23,94 ± 1,14
Bunga Randu	12,92 ± 2,87
Bunga Kaliandra	33,46 ± 2,28



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

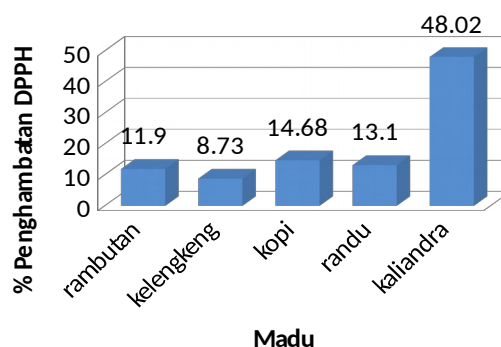
Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 1 dapat diketahui bahwa kadar flavonoid total tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra yaitu 33,46 mg/ 100 g, diikuti madu bunga kopi 23,94 mg/ 100 g, madu bunga randu 12,92 mg/ 100 g, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan rambutan masing-masing 4,94 dan 3,80 mg 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 ± 1,19
Bunga Kelengkeng		8,73 ± 0,69
Bunga Kopi		14,68 ± 1,37
Bunga Randu		13,10 ± 1,19
Bunga Kaliandra		48,02 ± 0,69



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

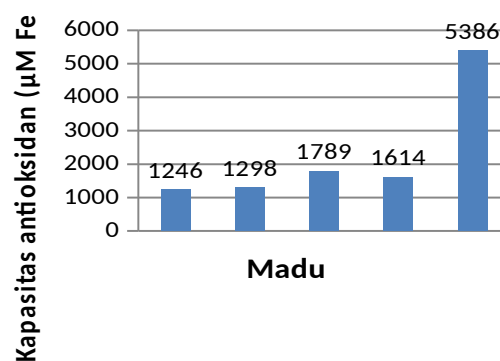
Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 2 dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan metode DPPH tertinggi adalah madu dari bunga kaliandra dengan % penghambatan DPPH adalah 48%, diikuti madu bunga randu 13,1%, madu bunga rambutan 11,9%, dan paling rendah madu bunga kelengkeng dan kopi masing-masing 8,73 dan 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 ± 30,4
Bunga Kelengkeng		1298 ± 80,4
Bunga Kopi		1807 ± 30,4
Bunga Randu		1614 ± 30,4
Bunga Kaliandra		5386 ± 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

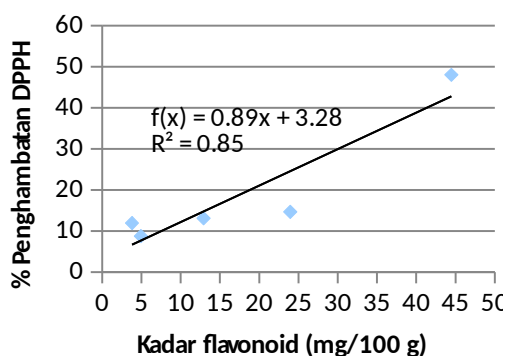
tinggi sebesar 5386 μM Fe (II), diikuti oleh madu bunga kopi, randu, kelengkeng, dan rambutan dengan kapasitas antioksidan metode FRAP berturut-turut adalah 1789, 1614, 1298, dan 1246 μM Fe (II).

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 Madu Monoflora	Kadar Flavonoid Total (mg/100 g)	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 $r=0,922$

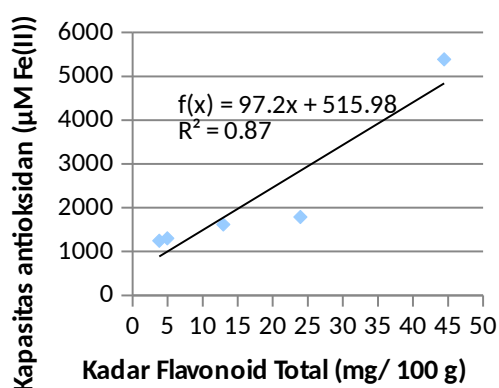
Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 3 dapat diketahui bahwa terdapat hubungan erat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH terbukti dengan nilai korelasi sebesar 0,922.

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 Madu Monoflora	Kadar Flavonoid Total (mg/100 g)	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.

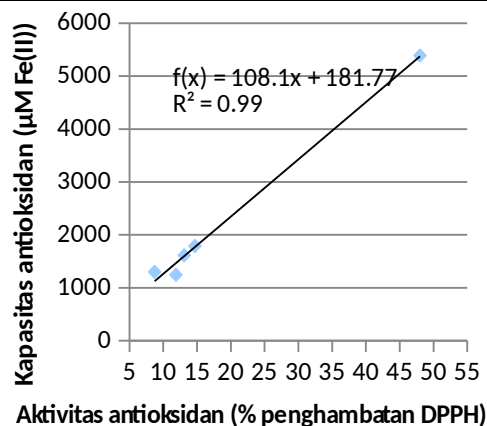
6. Hubungan Aktivitas Antioksidan DPPH dan Kapasitas Antioksidan FRAP pada Madu Monoflora

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 $r = 0,996$

4. 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.

5. 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-picrylhydrazyl, 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 Rumania sebesar 35,8-40,7% (Al dkk, 2009).

6. 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

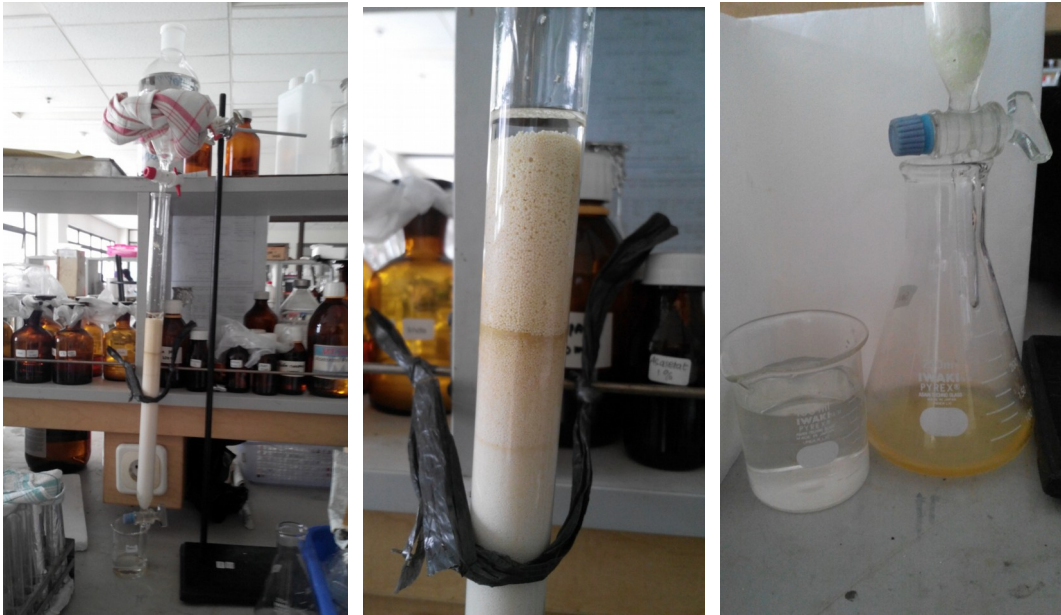
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tersebut dapat disimpulkan bahwa:

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.

LAMPIRAN 3. PRODUK EKSTRAK FLAVONOID**Empat jenis madu monoflora****Pembuatan kolom**



Sample loading

Rendemen ekstrak:

Madu 50 gram didapat ekstrak methanol ... ml

Setelah diekstrak dengan dietil ether didapat ekstrak ... ml