

IDENTIFIKASI SENYAWA BIOFLAVONOID PADA PROPOLIS HASIL EKSTRAKSI DARI SARANG LEBAH MADU HUTAN SUMBAWA (*APIS DORSATA*)

Wawat Rodiahwati¹, Ariskanopitasari², Imam K Saleh³

¹²³Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Teknologi Sumbawa

* Corresponding author. E-mail: wawat.rodiahwati@gmail.com

Abstrak

Diterima
Bulan Juni 2019

Diterbitkan
Bulan Agustus
2019

Kata Kunci:
sarang lebah *Apis dorsata*, propolis, bioflavonoid

Propolis merupakan salah satu produk potensial yang dapat dihasilkan dari olahan sarang lebah madu hutan. Selama ini, petani madu di Desa Batu Dulang, Kabupaten Sumbawa hanya mengambil madu hutan dengan cara ditiriskan dan disaring langsung dari sarangnya. Setelah itu, sarang lebah tidak dimanfaatkan dengan optimal. Padahal, pada sarang lebah madu tersebut terdapat propolis yang kaya akan bioflavonoid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan propolis dari sarang lebah madu hutan Sumbawa *Apis dorsata* dan mengidentifikasi senyawa bioflavonoid yang terkandung di dalamnya.

Metode yang dilakukan adalah metode eksperimen yang terdiri atas dua tahap. Tahap pertama adalah ekstraksi propolis dari sarang lebah madu *Apis dorsata* dengan menggunakan metode maserasi dan pemanasan gelombang mikro (microwave assisted extraction). Setelah ekstrak propolis diperoleh, tahap penelitian selanjutnya adalah mengidentifikasi senyawa bioflavonoid yang terkandung menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis. Analisis yang dilakukan adalah analisis rendemen dan total bioflavonoid.

Pada laporan kemajuan ini, propolis berhasil diekstrak dari sarang lebah madu hutan *Apis dorsata*, dari Desa Batu Dulang, Kabupaten Sumbawa. Rata-rata rendemen yang dihasilkan adalah 24.43% untuk perlakuan konsentrasi dan pemanasan microwave. Dari tiga konsentrasi pelarut propilen glikol yang digunakan, konsentrasi 20% merupakan konsentrasi pelarut yang optimal dalam menghasilkan rendemen propolis ekstrak pada penelitian ini, yaitu mencapai 30%. Senyawa bioflavonoid dari ketiga konsentrasi akan diuji pada tahap selanjutnya dari penelitian ini.

PENDAHULUAN

Lebah madu hutan (*Apis dorsata*) merupakan salah satu sumber daya kearifan lokal dan produk andalan dari Kabupaten Sumbawa. Luas hutan di Kabupaten Sumbawa mencapai 516.242 ha dan sebanyak 45.21% dari luas hutan tersebut merupakan kawasan hutan lindung yang sangat erat kaitannya dengan produksi madu hutan di wilayah Sumbawa (Julmansyah, 2010). Selain produksi madu, produk turunan bisa dikembangkan dari lebah madu, seperti lipbalm, makanan dan minuman, lilin lebah (*bees wax*), sabun dan propolis.

Propolis merupakan salah satu produk potensial yang dapat dihasilkan dari olahan sarang lebah madu hutan. Pada dasarnya, propolis adalah resin yang dihasilkan oleh lebah madu untuk membangun, memperbaiki dan melindungi sarang dari mikroorganisme karena propolis memiliki kandungan kompleks yang terdiri dari beberapa senyawa kimia termasuk bioflavonoid dan polifenol. Pada lima puluh tahun terakhir, berbagai studi sudah mengungkap aktivitas biologis

serbaguna dari propolis yaitu sebagai anti bakteri, anti jamur, anti virus, anti oksidan, anti peradangan dan immunomodulator (Burdock GA, 1998; Benskota et al., 2001; Sforcin dan Bankova, 2011).

Selama ini, petani madu di Desa Batu Dulang, Kabupaten Sumbawa hanya mengambil madu hutan dengan cara ditiriskan dan disaring langsung dari sarangnya. Setelah itu, sarang lebah tidak dimanfaatkan dengan optimal. Hal ini dikarenakan kurangnya pengetahuan masyarakat Sumbawa akan potensi sarang lebah madu. Padahal, pada sarang lebah madu tersebut terdapat propolis yang kaya akan bioflavonoid. Terlebih lagi, madu Sumbawa adalah madu hutan asli yang berasal dari tanaman khas di daerah dataran tinggi Sumbawa, maka kualitas dan jenis bioflavonoidnya kemungkinan besar juga beragam (Bankova, 2009).

Melalui penelitian ini diharapkan dapat mengidentifikasi senyawa bioflavonoid yang terkandung pada propolis hasil ekstraksi lebah madu hutan Sumbawa *Apis dorsata*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sarang lebah madu hutan *Apis dorsata* yang diambil dari Desa Batu Dulang, Kabupaten Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi adalah Propilen Glikol dengan metode maserasi dikombinasikan dengan *Microwave-Assisted Extraction*. Sedangkan bahan untuk analisis yang dibutuhkan adalah H₂SO₄ pekat, aquades, metanol 96%, AlCl₃, standar quercetin, kalium asetat dan etanol.

Adapun alat yang digunakan adalah rangkaian ekstraktor, tabung Erlenmeyer, *incubator shaker*, *Microwave oven*, kertas filter, pipet, neraca analitik, blender, tabung reaksi, alat sentrifugasi, tabung sentrifugasi dan spektrofotometer UV-VIS.

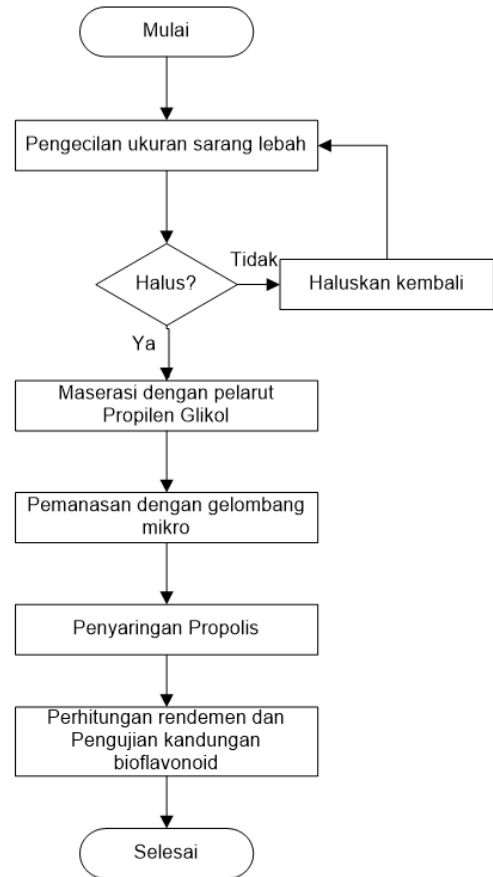
Prosedur Penelitian

Metode yang dilakukan adalah metode eksperimen yang terdiri atas dua tahap. Tahap pertama adalah ekstraksi propolis dari sarang lebah madu *Apis dorsata* dengan menggunakan metode maserasi dan pemanasan gelombang mikro (*microwave assisted extraction*). Setelah ekstrak propolis diperoleh, tahap penelitian selanjutnya adalah mengidentifikasi senyawa bioflavonoid yang terkandung menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis. Tahapan penelitian selengkapnya dijelaskan melalui diagram alir yang tercantum pada Gambar 1.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua perlakuan yaitu konsentrasi pelarut Propilen Glikol (PG) dan pemanasan *microwave*. Peubah yang diamati (variabel terikat) adalah kandungan bioflavonoid dan rendemen.

Sedangkan perlakuan yang dilakukan (variabel bebas) adalah konsentrasi Propilen Glikol yang terdiri dari tiga taraf yaitu 10%, 20% dan 30%. Sedangkan perlakuan *microwave* terdiri atas dua taraf yaitu dengan pemanasan *microwave* dan tanpa pemanasan *microwave*. Perlakuan dilakukan sebanyak dua kali ulangan (*duplo*) sehingga diperoleh 12 unit percobaan.

Kontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah perlakuan tanpa pelarut propilen glikol dan tanpa pemanasan *microwave*. Data dan hasil percobaan akan dianalisis menggunakan *software* SPSS 16.0 yaitu *Analysis of Variance* (Anova) dengan taraf 5%. Jika terdapat perbedaan nyata, maka akan dilanjutkan dengan Uji Duncan.



Gambar 1. Diagram alir percobaan

Model umum rancangan percobaan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk} \quad (1)$$

Keterangan :

Y_{ijk} : nilai pengamatan pada perlakuan konsentrasi pelarut Propilen Glikol taraf ke-*i*, pemanasan *microwave* taraf ke-*j*, dan pada ulangan ke-*k*

μ : nilai rata-rata umum

A_i : pengaruh perlakuan konsentrasi pelarut Propilen Glikol pada taraf ke-*i*

B_j : pengaruh perlakuan pemanasan *microwave* pada taraf ke-*j*

$(AB)_{ij}$: pengaruh interaksi perlakuan konsentrasi pelarut Propilen Glikol ke-*i* dan perlakuan pemanasan *microwave* pada taraf ke-*j*

ϵ_{ijk} : galat percobaan

i : konsentrasi pelarut Propilen Glikol

j : Perlakuan pemanasan *microwave*

k : ulangan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan Sarang Lebah *Apis dorsata*

Pengumpulan sarang lebah madu hutan ternyata tidak semudah mencari produk madu yang dihasilkan. Sebagian besar pencari madu hutan liar di Kabupaten Sumbawa tidak memanfaatkan sarang lebah yang sudah diperas atau diambil madunya. Kebanyakan sarang lebah yang sudah diperas hanya dibuang. Selain itu, musim hujan yang sedang melanda Kabupaten Sumbawa membuat produksi madu hutan menurun sehingga pengumpulan sarang lebah pun semakin sulit dan jarang sekali ditemukan.

Peneliti baru berhasil mendapatkan sampel sarang lebah *Apis dorsata* dari pencari madu liar pada awal bulan Juli di Desa Batu Dulang, Kecamatan Batu Lanteh, Kabupaten Sumbawa. Masyarakat setempat menyebutnya dengan istilah polen, yang sudah diperas dan dibentuk bulatan-bulatan seperti pada Gambar 2. Proses preparasi atau persiapan bahan baku untuk ekstraksi adalah pengecilan ukuran menggunakan blender sehingga dihasilkan bahan baku yang siap diberikan perlakuan.



Gambar 2. Sarang lebah *Apis dorsata* setelah diperas madunya dan sarang lebah yang sudah dihaluskan menggunakan blender.

Sarang lebah *Apis dorsata* ini memiliki karakteristik yang cukup lengket, berwarna kuning kecokelatan, namun masih cukup mudah dihancurkan pada suhu ruang (25°C). Namun pada suhu yang cukup tinggi (>50°C), bentuk sarang lebah ini menjadi semakin cair karena wax yang terkandung di dalamnya mengalami pelelehan, namun struktur sarang akan semakin lengket jika sudah didinginkan. Oleh karena itu, untuk mengurangi kandungan wax pada propolis, bagian yang lengket (wax) dipisahkan dari bagian propolis yang tidak lengket.

Proses ekstraksi propolis dari sarang lebah madu hutan *Apis dorsata*

Proses ekstraksi propolis dari sarang lebah madu hutan *Apis dorsata* dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah maserasi, yaitu proses ekstraksi bahan dengan larutan propilen glikol pada suhu ruang. Proses maserasi dilakukan menggunakan *incubator shaker* selama 24 jam. Tujuan dan prinsip dari maserasi ini adalah untuk mengikat senyawa –senyawa penting pada propolis yaitu senyawa fenol, flavon, dan

flavonoid menggunakan pelarut organik. Pelarut propilen glikol dipilih dalam penelitian ini karena daya ekstraknya yang cukup baik dan merupakan pelarut yang aman digunakan pada industri makanan dan farmasi.



Gambar 3. Proses ekstraksi sarang lebah tahap satu (maserasi)

Proses maserasi yang standar membutuhkan waktu yang cukup lama (4 hingga 7 hari) untuk mendapatkan keseimbangan ekstraksi dari pelarut dan bahan yang terlarut. Untuk mengurangi lamanya proses maserasi ini, proses ekstraksi propolis dari sarang lebah madu hutan *Apis dorsata* dikombinasikan dengan proses ekstraksi menggunakan *microwave* (*microwave assisted extraction*) untuk meningkatkan proses pengikatan bahan yang diinginkan oleh pelarut. Namun, propolis mempunyai daya tahan yang kurang baik terhadap panas sehingga waktu yang dibutuhkan untuk proses ekstraksi menggunakan *microwave* hanya sebentar saja yaitu 30 detik agar kandungan bioflavonoid pada propolis tidak mengalami kerusakan.

Pada saat ekstraksi menggunakan *microwave*, sarang lebah terlarut sempurna dengan pelarut propilen glikol dan tidak tampak granula padatan pada larutan tersebut. Namun setelah dingin, wax yang mencair mengalami pematatan dan bahan menjadi sangat lengket. Setelah ekstraksi menggunakan *microwave*, bahan didiamkan sejenak dan bagian yang keras (wax) dipisahkan sehingga propolis ekstrak yang cair tanpa wax dihasilkan. Setelah itu, propolis ekstrak ini disentrifugasi untuk mendapatkan supernatan yang merupakan propolis ekstrak yang diinginkan.

Proses pemurnian propolis ekstrak

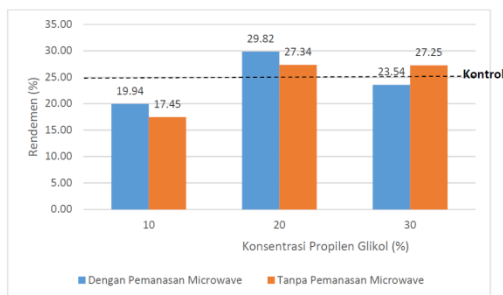
Proses pemurnian yang dilakukan pada propolis ekstrak adalah dengan penyaringan dari hasil sentrifugasi propolis ekstrak. Supernatan yang dihasilkan setelah proses sentrifugasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan bagian padatan yang tidak terlarut (sepah) yang masih tertinggal pada larutan propolis ekstrak. Proses penyaringan memakan waktu sekitar tiga hari pada suhu ruang dan tekanan 1 atm. Rendemen propolis dihitung berdasarkan jumlah propolis ekstrak yang berhasil disaring. Setelah itu, sampel propolis ekstrak disimpan di refrigerator sebelum dilakukan proses

identifikasi dan perhitungan kandungan bioflavonoid dengan standar kuersetin.

Rata-rata rendemen propolis ekstrak yang dihasilkan adalah 24.43% untuk perlakuan konsentrasi dan pemanasan microwave, sedangkan tanpa pemanasan mempunyai rata-rata rendemen 24%. Dari hasil perhitungan rendemen, pemanasan menggunakan microwave memberikan pengaruh terhadap rendemen. Pengaruh konsentrasi propilen glikol terbaik dengan pemanasan microwave terhadap hasil rendemen adalah konsentrasi 20%, yaitu menghasilkan rendemen sebesar 29.13%. Sedangkan tanpa pemanasan microwave, rendemen propolis pada konsentrasi 20% dan 30% tidak memberikan perbedaan yang signifikan.

Tabel 1. Perlakuan pada proses ekstraksi propolis sarang lebah Apis dorsata dan rendemen yang dihasilkan.

No	Konsentrasi PG (%)	Microwave	Massa awal bahan (g)	Vol larutan PG (ml)	Vol larutan PG (g)	Propolis Ekstrak (ml)	Propolis Ekstrak (g)	Rendemen (mlg bahan)	Rendemen (%)
1	0	No	10	30	30	10.7	10	1.07	25.00
2	10	Yes	10	30	30.12	8.55	8	0.855	19.94
3	10	No	10	30	30.12	7.3	7	0.73	17.45
4	20	Yes	10	30	30.24	12.2	12	1.22	29.82
5	20	No	10	30	30.24	11.5	11	1.15	27.34
6	30	Yes	10	30	30.36	9.75	9.5	0.975	23.54
7	30	No	10	30	30.36	11.2	11	1.12	27.25



Gambar 4. Rendemen propolis ekstrak dengan variasi perlakuan konsentrasi pelarut propilen glikol dan *microwave assisted extraction*.

Pada konsentrasi propilen glikol 10%, rendemen yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan rendemen yang didapat pada kontrol (tanpa pelarut propilen glikol dan *microwave*). Hal ini bisa terjadi karena pada pelarut dengan konsentrasi rendah, proses pengikatan zat terlarut oleh pelarut tidak begitu optimal. Selain itu, proses pemanasan *microwave* meningkatkan pemekatan pada bahan (*wax*) yang terpisahkan setelah proses *microwave assisted extraction*.

Sedangkan pada konsentrasi propilen glikol 30%, proses ekstraksi telah melewati fase kesetimbangan maksimal yaitu pada konsentrasi 20%, sehingga peningkatan propilen glikol tidak serta merta diikuti peningkatan rendemen pada hasil propolis ekstrak.

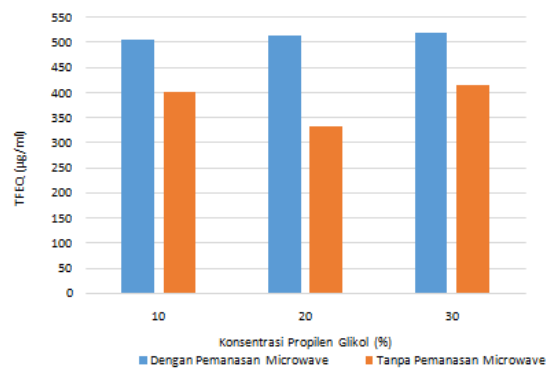
Tahap selanjutnya dalam penelitian ini adalah identifikasi senyawa bioflavonoid dalam propolis ekstrak.

Identifikasi senyawa bioflavonoid

Senyawa bioflavonoid merupakan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan mereduksi radikal bebas (Hasan et al., 2013). Pengukuran kadar bioflavonoid total dilakukan dengan metode spektrofotometer metode Chanda dan Dave (2009).

Tabel 2. Kadar flavonoid ekstrak propolis sarang lebah Apis dorsata

No	Konsentrasi PG (%)	Microwave	Hasil Pembacaan (ppm)	Perolehan (µg/ml)	Kadar (µg/ml)
1	0	No	7.536	376.8	376.8
2	10	Yes	10.119	505.95	505.95
3	10	No	8.004	400.2	400.2
4	20	Yes	10.311	515.55	515.55
5	20	No	6.675	333.75	333.75
6	30	Yes	10.381	519.05	519.05
7	30	No	8.3	415	415



Gambar 5. Kadar flavonoid propolis ekstrak dengan variasi perlakuan konsentrasi pelarut propilen glikol dan *microwave assisted extraction*.

Rata-rata kadar bioflavonoid ekstrak propolis yang dihasilkan untuk perlakuan variasi konsentrasi dan pemanasan microwave adalah 513.51 µg/ml, sedangkan tanpa pemanasan microwave memiliki rata-rata kadar flavonoid sebanyak 382, 98 µg/ml. Kadar flavonoid tertinggi terukur pada 30% propilen glikol dengan pemanasan microwave yaitu sebanyak 519.05 µg/ml, sedangkan kadar terendah terukur pada 20% propilen glikol tanpa pemanasan microwave yaitu sebanyak 333.75 µg/ml.

Semua perlakuan baik menggunakan propilen glikol maupun pemanasan microwave terhadap ekstrak propolis menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan kadar flavonoid yang dihasilkan pada perlakuan kontrol (tanpa pelarut propilen glikol dan microwave). Hal ini terjadi karena pemanasan oleh microwave (gelombang mikro) dapat memecah dinding sel melalui energi yang ditransfer kedalam pelarut (Destandau, 2013). Penggunaan pelarut berupa propilen glikol juga dapat mempengaruhi perbedaan kadar flavonoid yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan propilen glikol dan kuersetin dari golongan flavonoid memiliki sifat serupa yaitu bersifat semi polar sehingga propilen glikol dapat

melarutkan flavonoid lebih baik dibandingkan air yang bersifat polar (Monache, 1996).

PENUTUP

Berdasarkan eksperimen yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan bahwa sarang lebah madu hutan *Apis dorsata* dari Desa Batu Dulang, Kabupaten Sumbawa memiliki potensi dimanfaatkan sebagai bahan baku propolis. Perlakuan variasi konsentrasi propilen glikol dan pemanasan *microwave* pada proses ekstraksi sarang lebah memberikan pengaruh terhadap rendemen propolis dan kadar flavonoid propolis yang dihasilkan.

Berdasarkan pengukuran kadar flavonoid pada ekstrak propolis *Apis dorsata* disimpulkan bahwa perlakuan yang terbaik adalah perlakuan dengan kombinasi pelarut 30% dan pemanasan *microwave* yaitu sebanyak 519.05 µg/ml.

Ucapan Terima kasih

Penelitian ini dapat terlaksana dengan baik atas pendanaan dari Hibah Kompetitif Penelitian Dosen Pemula (PDP) dari Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Indonesia. Selain itu, peneliti juga berterima kasih kepada pihak *Science* dan *Techno Park* Sumbawa (Sumbion) yang telah menyediakan fasilitas untuk mendukung penelitian ini.

REFERENSI

- Bankova, V. 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J. Ethnopharmacol.* 100, 114–117.
- Bankova, V. 2009. Chemical Diversity of Propolis makes it a Valuable Source of New Biologically Active Compounds. *J ApiProducts ApiMed Sci* 1: 23 – 28.
- Benskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, S. 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytoter Res* 15: 561 – 571.
- Burdock, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol* 1998, 36: 347 - 636.
- Chanda, S dan Dave, R. 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research* Vol 3 (13), pp 981-996.
- Farre, R., Frasquet, I., Sanchez, A. 2004. El Propolis y La Salud (Propolis and Human

Health). *Ars Pharmaceutica*, Vol. 45, No. 1, Hal. 21-43.

- Hasan, AEZ., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T.C., Suparno, O., dan Setiyono, A. 2013. Optimasi ekstraksi propolis menggunakan cara maserasi dengan pelarut etanol 70% dan pemanasan gelombang mikro serta karakterisasinya sebagai bahan anti kanker payudara. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* Vol 23, No. 1, Hal. 13-21.
- Heo, H.J., Lee, C.Y. 2004. Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative stress induced neurodegeneration. *Journal Agric Food Chem*, 52: 7514-7517.
- Jack, C.J., Lucas, H.M., Webster, T.C., Sagili, R.R. 2016. Colony Level Prevalance and Intensity of Nosema ceranae in Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *PLoS ONE* 11 (9): e0163522. DOI: 10.1371/journal.pone.0163522.
- Julmansyah. 2010. *Madu Hutan Menekan Deforestasi, Jalan Lain Konservasi DAS dan Adaptasi Perubahan Iklim*. Jaringan Madu Hutan Sumbawa (JMHS).CV. Arti Bumi Intaran. Yogyakarta.
- Koeniger, N., Koeniger, G., and Tingek, S. 2010. Honey Bees of Borneo: Exploring the centre of *Apis* diversity. *Natural History Publications (Borneo)*. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.
- L. Taiz, E. Zeiger. 2008. *Plant Physiology* edisi 5. Mentor-Marcel *et al.* 2001. Genistein in the diet reduces the incidence of poorly differentiated prostatic adenocarcinoma in transgenic mice (TRAMP). *Cancer Res*, 61: 6777-6782.
- Middleton *et al.* 2000. The Effect of Plant Flavonoids on Mamalian cells : Implication for information, heart isease, and cancer. *Pharmacol, Rev.* 52: 673-751.
- Miyagi *et al.* 2000. Inhibit ion of azoxymethane-induced colon cancer by orange Juice. *Nutr Cancer*, Vol. 36: 224-229.
- Oldroyd, B.P., Wongsiri, S. 2006. *Asian Honey Bess: Biology, Conservations and Human Interactions*. Harvard University Press Cambridge. United Kingdom.
- Rahmawan, L.S. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L). *Skripsi*. Univ Muhammadiyah, Surakarta.
- Sforcin, J.M., Bankova, V. 2011. Propolis: Is there a potential for the development of a new drugs?. *J Ethnopharmacol* 133: 253 – 260.