

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Madu

Madu merupakan cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu (*Trigona Drescheri*) dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral) (SNI 2018). Madu dibuat oleh lebah dengan mengubah nektar bunga melalui proses regurgitasi serta evaporasi, dimana hasilnya disimpan dalam sarang lebah sebagai bahan makanan utama (Penelitian et al., 2019).

Madu adalah cairan alami yang umumnya memiliki rasa manis, dihasilkan oleh lebah madu, dari sari bunga tanaman atau bagian lain dari tanaman floral nektar atau ekskresi serangga yang berkhasiat dan bergizi tinggi. Lebah madu *Trigona* Menghasilkan jumlah madu yang sedikit bila dibandingkan dengan lebah *Apis sp* (lebah madu lokal). sarang lebah *Trigona* menghasilkan madu kurang lebih 1 kg/tahun sedangkan *Apis sp* menghasilkan madu mencapai 2kg/tahun (Fachry, 2011).

Madu tersusun atas beberapa senyawa gula seperti glukosa dan fruktosa serta sejumlah mineral seperti magnesium, kalium, kalsium, natrium, klor, belerang, besi dan fosfat. Madu juga mengandung vitamin B1, B2, C, B6 dan B3 yang komposisinya berubah-ubah sesuai dengan kualitas nektar dan serbuk sari. Disamping itu, dalam madu terdapat pula sejumlah kecil tembaga, yodium, dan seng serta beberapa jenis hormon (Fachry, 2011).

Kitab Suci Al Quran dalam Surat An Nahl 16 : 68-69 (An Nahl berarti lebah) menyebut bahwa manfaat madu sebagai obat yang menyembuhkan manusia. Secara umum madu mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh karena nutrisi madu paling lengkap, Madu berkadar gula tinggi 80-90%.

Berdasarkan jurnal penelitian yang berjudul perbandingan parameter fisikokimia madu, gula produksi, keasaman, cemaran dan abu dengan madu manis murni terdapat hasil standar madu asli berdasarkan SNI yaitu :

JENIS UJI	SATUAN	SNI
Aktivitas Enzim Diastase	DN	Min. 3
Hydroxi Methyl Furfural	Mg / kg	Maks 50
Kadar air	% b/b	Maks 22
Gula produksi	% b/b	Min. 65
Sukrosa	% b/b	Maks 5
Keasaman	MI N NaOH / kg	Maks 50
Abu	% b/b	Maks 0, 50
Logam Arsen (As)	Mg / kg	Maks 0,50



Gambar 1 Madu

(sumber: Fachry, 2011)

Madu mengandung beberapa senyawa dan sifat antioksidan yang telah banyak diketahui. Sifat antioksidan dari madu yang berasal dari zat-zat enzimatik (misalnya, katalase, glukosa oksidase dan peroksidase) dan zat-zat nonenzimatik (misalnya, asam askorbat, α -tokoferol, karotenoid, asam amino, protein, produk reaksi Maillard, flavonoid dan asam fenolat). Jumlah serta jenis antioksidan ini sangat tergantung pada sumber bunga atau varietas madu, dan telah banyak penelitian yang menunjukkan bahwa adanya hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenol (Wulandari et al., 2017).

Madu secara umum didefinisikan sebagai zat cair yang kental manis, yang dibuat oleh lebah dengan jalan proses peragian dari nektar bunga atau cairan manis yang dihasilkan bagian-bagian lain selain bunga. Nektar adalah zat yang sangat kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar nektarifer dalam bentuk larutan gula dengan konsentrasi yang bervariasi berkisar antara 5-70%, konsentrasi ini dipengaruhi oleh kelembaban udara, tanah, jenis tanaman dan lain-lain (Gunawan, 2018).

Madu merupakan larutan gula jenuh yang diproduksi oleh lebah. Lebah mengumpulkan nektar dari bunga tanaman, kemudian diubah melalui kombinasi enzim sebagai sekresi saliva (Endang et al., 2020). Madu memiliki lebih dari 200 senyawa dengan gula sebagai komponen utama termasuk fruktosa (38,3%), glukosa (30,3%), maltosa (7,1%) dan sukrosa (1,3%). Zat lain yang ditemukan dalam madu diantaranya asam (0,5%), protein (0,3%),

mineral (0,2%) dan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, asam askorbat, enzim (katalase dan peroksidase), karotenoid (Sp & Lombok, 2021).

Madu memiliki berbagai aktivitas biologis diantaranya sebagai antibakteri, antiinflamasi, antidiabetes, penyembuh luka, antikanker, imunomodulator, dan lain-lain (Sp & Lombok, 2021).

Kadar air madu dipengaruhi kelembaban lingkungan yang ada. Hal ini disebabkan karena madu mempunyai sifat higroskopis, yaitu mudah menyerap air. Semakin tinggi kelembaban lingkungan maka kadar air madu akan semakin tinggi pula. Jika kelembaban 51%, kadar air madu 16,1%. Jika kelembaban 81%, kadar air madu 33,4% (Ariandi & Khaerati, 2017). Kadar air madu sangat berpengaruh terhadap fermentasi, yang mana semakin rendah kadar air akan menjaga madu dari kerusakan untuk jangka waktu yang relatif lama. Pengeringan adsorpsi merupakan salah satu alternatif penurunan kadar air madu yang berguna untuk meningkatkan kualitas madu dan efisiensi energi proses pengeringan (Ariandi & Khaerati, 2017).

Tabel 1. Standar Madu Asli berdasarkan SNI

JENIS UJI	SATUAN	SNI
Aktivitas Enzim Diastase	DN	Min. 3
Hydroxi Methyl Furfural	Mg / kg	Maks 50
Kadar air	% b/b	Maks 22
Gula preduksi	% b/b	Min. 65
Sukrosa	% b/b	Maks 5
Keasaman	MI N NaOH / kg	Maks 50
Abu	% b/b	Maks 0, 50
Logam Arsen (As)	Mg / kg	Maks 0,50

2. Lebah Klanceng Itama

Lebah klanceng disebut juga “lanceng” dengan nama latin (*Trigona itama*). Lebah ini tidak menyengat seperti lebah madu pada umumnya, lebah klanceng berukuran kecil dan bisa hidup di sekitar manusia (Dewantari, 2019). Klanceng menghasilkan madu dari aktifitas mengumpulkan madu dan menyimpannya dalam pot-pot dalam sarangnya yang dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung air, keasaman, dan senyawa inhibitor flavonoid (Nafi et al., 2019)

Lebah Klanceng (*Trigona sp*) merupakan lebah yang tidak memiliki sengat, tidak ganas, hidup berkoloni, penghasil madu, mudah beradaptasi dan tidak mudah kabur, serta tidak membutuhkan area budidaya yang luas. Lebah Klanceng merupakan lebah penghasil madu. Cara hidup lebah klanceng ini dengan hidup berkoloni. Lebah klanceng selama ini dibudidayakan untuk diambil madunya. *Trigona sp* tidak memiliki sengat (*stingless bee*) dan mudah beradaptasi dengan lingkungan baru (BPTHHBK, 2018).

Lebah klanceng ini merupakan salah satu jenis lebah tanpa sengat yang mampu menghasilkan madu dan propolis dalam jumlah tertentu dan memiliki khasiat yang baik bagi tubuh diantaranya menghambat pertumbuhan bakteri di dalam tubuh (Endang et al., 2020). Pakan lebah klanceng berasal dari berbagai macam jenis tumbuhan yang menghasilkan nektar dan polen. Beberapa jenis tumbuhan sumber pakan bagi lebah klanceng yaitu *Carica papaya*, *Nephelium longan*, *Acacia auriculiformis*, *Eucalyptus nandiniana*, *Amaranthus spinosus*, *Cosmos caudatus*, *Clitoria ternatea*, *Zea mays*,

Averrhoa carambola, *Talinum paniculatum*, *Capsicum annum*, *Coleus scutellarioides*, dan *Impatiens balsamina* (Serang et al., 2019).



Gambar 2 Lebah *Trigona itama*

(Serang et al., 2019)

Lebah Klanceng (*Trigona sp*) adalah lebah yang tidak memiliki sengatan, tidak ganas, hidup berkoloni, penghasil madu, mudah beradaptasi dan tidak mudah kabur, serta tidak membutuhkan area budidaya yang luas. Hasil utama dari lebah klanceng ialah madu, selain itu juga menghasilkan *bee polen*. *Bee polen* dapat bermanfaat sebagai suplemen makanan yang berasal dari ekstrak alami yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Menurut Vassev et al., (2015) menyatakan bahwa *bee polen* mengandung protein, asam amino, karbohidrat, lemak dan asam-asam lemak, dan berbagai macam vitamin.

Lebah klanceng (*trigona sp*) merupakan lebah penghasil madu, propolis, dan *bee bread*. Propolis diproduksi lebih banyak dibandingkan madu dan *bee brand*. Propolis mentah merupakan berupa lem yang dijadikan sebagai pertahanan yang memberikan perlindungan dari serangan predator (Riendriasari & Krisnawati, 2017). Lebah klanceng diketahui dapat

menghasilkan madu yang mempunyai kandungan vitamin C yang berfungsi sebagai antibiotik, antitoksin, antioksidan serta untuk meningkatkan sistem imun atau kekebalan tubuh (Dan et al., 2014).

Kandungan gizi madu Klanceng juga telah diteliti lebih baik dibanding dengan madu lebah biasa. Sebagai contoh propolis yang dihasilkan dari *Trigona* sp. Memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Salmonella (Hasan et.al, 2011). kualitas madu Kelulut juga sama baiknya dengan madu hutan (*Apis dorsata*) dalam mengendalikan kadar kolesterol darah (Rahma et.al., 2014). Perbandingan karakteristik madu hutan dan Kelulut dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Perbandingan Karakteristik Madu Apis dan Madu Kelulut

(Rahma et.al.,2014)

Perbandingan	Madu Hutan	Madu Klanceng
Rasa	Cenderung manis	Cenderung asam, kecut, pahit
Propolis	< 1 kg per tahun	8,5 kg per tahun
Kandungan Enzim	Relatif sedikit jenis	Lebih beragam jenisnya
Kelembapan	Sekitar 20 %	Sekitar 30 %

Lebah klanceng memiliki ciri utama yaitu tidak memiliki sengat (*Stingless bee*), sehingga lebah Trigona mengandalkan propolis untuk melindungi sarang dari serangan predator dan untuk mempertahankan kestabilan suhu didalam sarang. Lebah Trigona secara umum berwarna hitam, ada juga yang berwarna kekuningan dan kemerahan. Tubuhnya terdiri dari tiga macam bagian, yaitu kepala (caput), dada (thoraks) dan perut (abdomen). Pada bagian kepala terdapat sepasang mata majemuk, sepasang antena, dengan mulut berbentuk probosis untuk menghisap nektar. Lebah ini memiliki tiga pasang

tungkai yang beruas-ruas. Sepasang tungkai bagian belakang memiliki rambut dengan pola seperti keranjang. Hal tersebut bertujuan sebagai wadah untuk lebah *Trigona* mengumpulkan *bee pollen* dan getah/resin. Sebagian besar lebah *Trigona* memiliki gigi yang tidak terlalu tajam, sehingga tidak terasa sakit saat menggigit. Gaya terbangnya pun cukup elegan, pelan dan tidak terlalu berisik. Lebah *Trigona* juga memiliki dua pasang sayap yang bening sehingga dalam sistematika serangga termasuk kedalam *Ordo Hymenoptera*, Dan masih termasuk kedalam kelompok Familia *Apidae* bersama dengan semua lebah penghasil madu. Dikarenakan lebah penghasil madu ada yang memiliki sengat dan ada yang tidak, maka lebah yang tidak memiliki sengat, seperti *Trigona* dimasukan kedalam sub familia *Meliponinae*. Adapun secara lengkap klasifikasi dari *Trigona* adalah sebagai berikut:

Kingdom dengan keluarga *Animalia*, Phylum dengan keluarga *Arthropoda*, Class dengan keluarga *Insecta*, Ordo dengan keluarga *Hymenoptera*, Familia dengan keluarga *Apidae*, Sub Familia dengan keluarga *Meliponinae*, Genus dengan keluarga *Heterotrigona*, Spesies dengan keluarga *Heterotrigona itama*

3. Enzim Diastase

Enzim diastase adalah enzim yang merubah karbohidrat kompleks (polisakarida) menjadi karbohidrat yang sederhana (monosakarida) (Metode et al., 2019). *Enzim diastase* ditambahkan oleh lebah pada saat proses pematangan madu. Enzim ini hanya terdapat pada madu yang baru dipanen atau madu murni tanpa pengolahan. *Enzim diastase* memiliki peran penting untuk menilai kualitas madu dan digunakan sebagai indikator kemurnian madu karena enzim tersebut

berasal dari tubuh lebah. Aktivitas *enzim diastase* dapat digunakan sebagai indikator untuk mendeteksi perlakuan panas pada madu. Enzim merupakan protein dan hanya aktif pada keadaan tertentu. Enzim akan cepat rusak apabila kondisi terlalu asam, terlalu basa, terkena panas atau logam berat. Pemanasan pada suhu diatas 40C menyebabkan aktivitas *enzim diastase* menurun bahkan pada suhu tinggi menyebabkan enzim tersebut menjadi tidak aktif dan semakin lama penyimpanan menyebabkan enzim tersebut menjadi tidak aktif (Metode et al., 2019).

Enzim diastase merupakan enzim yang merubah karbohidrat kompleks menjadi karbohidrat yang sederhana. Enzim ini di berikan oleh lebah pada saat proses pematangan madu. Enzim ini kebanyakan hanya terdapat pada madu murni tanpa pengolahan (Metode et al., 2019).

Enzim diastase merupakan enzim yang merubah karbohidrat kompleks (polisakarida) menjadi karbohidrat sederhana (monosakarida) (Wulandari et al., 2017). Cara kerja *enzim diastase* adalah sebagai katalis dalam *menghidrolisis* karbohidrat kompleks atau polisakarida menjadi karbohidrat dengan rantai karbon sederhana atau monosakarida dilakukan dengan memotong setiap ikatan α -1,4 glikosidik pada amilum menjadi rantai pendek yakni glukosa. *Enzim diastase* juga berperan dalam proses fermentasi madu serta *menghidrolisis* amilum, protein dan glikosida. Aktivitas *enzim diastase* pH efektif berada pada kisaran 6-7.

Proses perubahan amilum menjadi glukosa yang dilakukan oleh *enzim diastase* pada madu dalam uji aktivitas enzim dengan menggunakan larutan

indikator I-KI sebagai indikator adanya amilum. Pembentukan warna biru terjadi karena struktur amilum yang berbentuk spiral heliks akan mengikat molekul I-KI (Priyanta et al.2010). Kemudian terjadi hidrolisis amilum oleh *enzim diastase* yang ditandai dengan perubahan warna menjadi nuansa kecokelatan yang menandakan amilum telah *terhidrolisis* menjadi dekstrin. Selanjutnya larutan akan berwarna kuning seulas yang menandakan dekstrin telah *terhidrolisis* menjadi maltosa dan proses hidrolisis dinyatakan selesai setelah larutan menjadi bening atau jernih yang menandakan bahwa amilum telah *terhidrolisis* menjadi glukosa (Suseno, 2014).

Pada pengujian aktivitas *enzim diastase* diketahui terdapat dua istilah yakni inhibitor dan aktivator. Inhibitor adalah senyawa yang menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Berdasarkan sifat kinetiknya inhibitor dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu *inhibitor kompetitif*, *nonkompetitif reversible* dan *nonkompetitif irreversible*. Sedangkan suatu senyawa, unsur atau ion yang dapat meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim disebut aktivator enzim (Sumardjo, 2006).

Pengujian aktivitas *enzim diastase* pada madu didasarkan dengan melihat nilai *Diastase Number* (DN) dalam satuan skala *schade* per gram yang terkandung di dalam madu. Satu unit aktivitas diastase didefinisikan sebagai nilai kadar enzim dalam 1 gram madu untuk menghidrolisis 1 mL amilum menjadi glukosa dalam waktu 60 menit pada suhu 40 °C. (BSNI, 2013).

4. Trigona itama

Trigona itama adalah lebah tak bersengat yang tergolong dalam suku *Meliponini* dan termasuk dalam *trigona marga*. Trigona itama juga dikenal sebagai "lebah klanceng" oleh masyarakat. Trigona itama merupakan salah satu jenis lebah yang menghasilkan propolis. Didasarkan pada kajian ilmiah yang telah ditelusuri, belum ada pengujian tentang aktivitas antioksidan yang dikhususkan pada propolis lebah trigona (*Trigona itama*) sedangkan menurut, lebah trigona memproduksi propolis lebih tinggi jika dibandingkan dengan jenis lebah penghasil propolis lainnya (Wardaniati & Yanti, 2018).

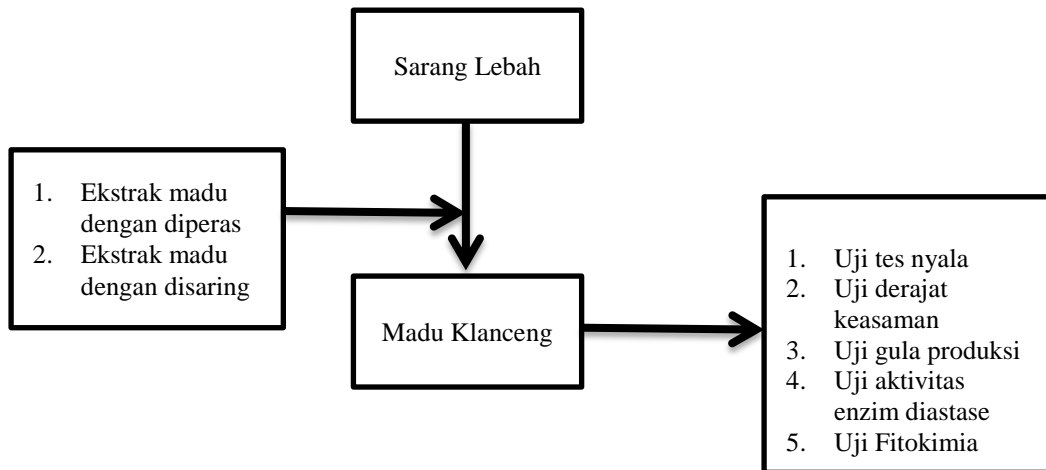
5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel madu yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang digunakan diharapkan dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam sampel (Depkes RI, 2008).

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian. Bertujuan untuk memberi gambaran mengenai golongan senyawa yang terkandung di dalam sampel madu (Simaremare, 2014). Uji fitokimia madu klanceng berfungsi untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam

madu klanceng. Untuk uji skrining fitokimia pada sampel madu klanceng itama meliputi, uji steroid, uji saponin dan uji alkaloid

B. Kerangka Pemikiran



Gambar 3 Kerangka pemikiran

C. Hipotesis

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian. Bertujuan untuk memberi gambaran mengenai golongan senyawa yang terkandung di dalam sampel (Simaremare, 2014). Uji fitokimia madu klanceng berfungsi untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam madu klanceng. Pada uji fitokimia dapat menunjukkan apakah madu klanceng mengandung senyawa alkaloid atau tidak (Sp & Lombok, 2021).

Dalam pengujian mutu madu menurut SNI, kedua monosakarida yang terdiri atas glukosa dan fruktosa tersebut diistilahkan sebagai gula pereduksi. Berdasarkan kandungan gula pereduksinya, maka kelima sampel madu hutan mallawa memenuhi standar mutu SNI dan standar International

Honey Commission (IHC) yang berada pada kisaran $\geq 40 - 65$ %. Aktivitas Enzim Diastase didapat serapan kurang dari 0,235.