

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambar Lokasi Amfoang Timur, Tengah dan Selatan

Amfoang, Kabupaten Kupang, NTT



Gambar 2. Lokasi Amfoang

B. Identifikasi Flavonoid Pada Madu Amfoang Timur, Tengah dan Selatan

Hasil flavonoid yang di peroleh dapat di lihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia dari madu Amfoang

Sampel Madu	Metabolit sekunder	Hasil
Madu Amfoang Timur	Flavonoid	 (+).
Madu Amfoang Tengah	Flavonoid	 (+).
Madu Amfoang Selatan	Flavonoid	 (+).

Keterangan : Positif (+)

Negatif (-)

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2, Madu Amfoang Timur, Tengah dan Selatan mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid yang di

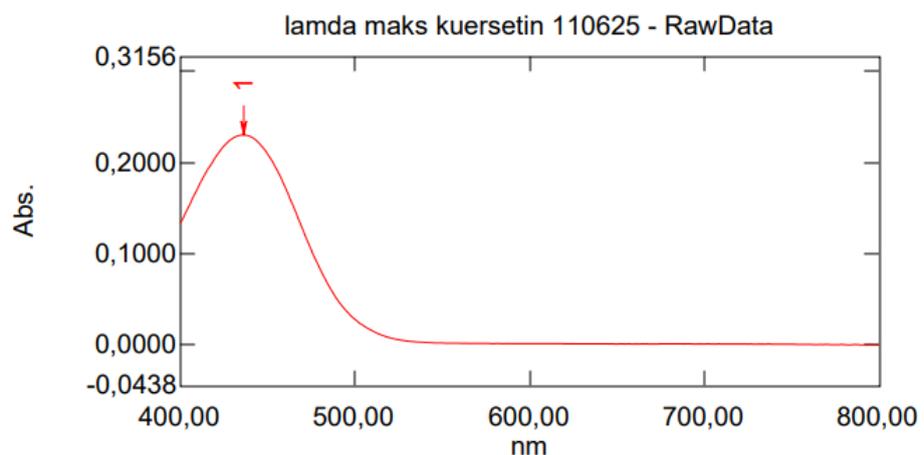
buktikan dengan adanya perubahan warna menjadi merah magenta (+). Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal baik, radikal hidroksi dan superoksida. Peran senyawa flavonoid sebagai antioksidan yang dapat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektron kepada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga radikal bebas berkurang (Reni Silvia Nasution et al., 2023).

C. Pengukuran kadar total flavonoid

Pengujian kadar total flavonoid pada madu, termasuk madu Amfoang, merupakan aspek krusial dalam karakterisasi dan penilaian kualitas madu, terutama dari perspektif fitokimia dan potensi farmakologisnya. Flavonoid adalah kelompok senyawa polifenol alami yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan, akibatnya, juga pada madu sebagai produk lebah yang mengumpulkan nektar dan getah tanaman (Gheldof et al., 2002). Senyawa ini dikenal luas karena aktivitas antioksidannya, anti-inflamasi dan berbagai manfaat kesehatan lainnya, yang menjadikan kadar flavonoid sebagai indikator penting dalam kualitas dan nilai fungsional madu (Aye et al., 2010). Penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis, khususnya dengan pereaksi seperti Aluminium Klorida ($AlCl_3$), adalah pendekatan standar dan terevaluasi untuk kuantifikasi total flavonoid karena kemampuannya membentuk kompleks berwarna dengan gugus hidroksil pada flavonoid yang absorbansinya dapat ditentukan pada panjang gelombang spesifik. (Chang et al., 2002).

1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan kadar total flavonoid dilakukan dengan metode kurva standar menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Langkah awal adalah menentukan panjang gelombang maksimum untuk mengetahui titik dengan nilai absorbansi tertinggi. Kuersetin digunakan sebagai larutan standar karena termasuk flavonoid kuat dari golongan flavonol yang memiliki gugus keton pada atom C-4 serta gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan. Selain itu, banyak tanaman obat diketahui memiliki kandungan kuersetin yang tinggi dan aktivitas farmakologis yang signifikan (Effendy et al., 2024). Penambahan $AlCl_3$ dalam analisis berfungsi membentuk kompleks yang dapat menyebabkan pergeseran panjang gelombang menuju daerah cahaya tampak (Vis). Pengukuran absorbansi dilakukan pada rentang panjang gelombang 400–800 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum ditampilkan pada gambar berikut.



Gambar 3. Panjang gelombang maksimum

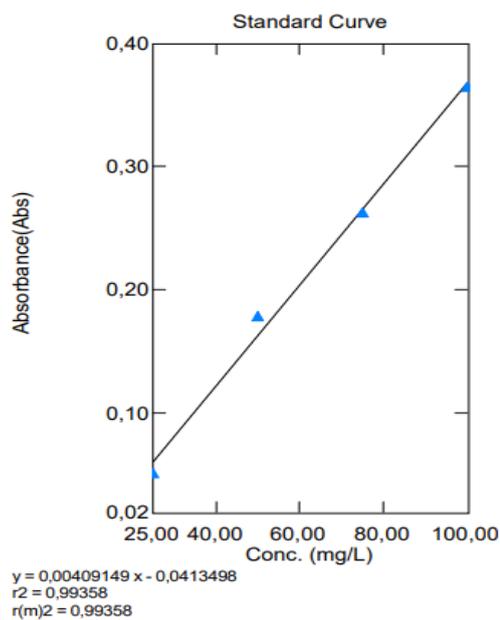
2. Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Pembuatan Kurva standar kuersetin dibuat dengan menggunakan variasi konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 ppm, kemudian diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 435,2 nm. Hasil pengukuran disajikan pada tabel berikut.

Tabel 3. Uji kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
25	0,0518
50	0,1786
75	0,2624
100	0,3648

Regresi linier dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi larutan kuersetin hasil dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 4. Regresi Linear Kuersetin

Berdasarkan grafik tersebut, kurva kalibrasi untuk absorbansi kuersetin pada konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 ppm memiliki persamaan regresi $y = 0,00409149x + 0,0413498$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,99358. Nilai r yang mendekati 1 ini menunjukkan bahwa kurva kalibrasi bersifat linear dan terdapat keterkaitan antara konsentrasi larutan standar kuersetin dengan nilai absorbansinya. (Chang et al., 2002).

3. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid

Hasil pengukuran absorbansi disajikan pada tabel berikut.

Tabel 4. Hasil Absorbansi dan Konsentrasi Total Flavonoid pada Madu Amfoang Tmur, Tengah dan Selatan

Nama	Madu Amfoang timur			Madu amfoang tengah			Madu Amfoang selatan		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Absorbansi	0,0393	0,0365	0,0316	0,0316	0,0294	0,0382	0,0122	0,0179	0,0477
Konsentrasi (%)	0,82	0,79	0,74	0,74	0,72	0,81	0,54	0,60	0,90
Rata-rata	0,78% \pm 0,032998 atau 7,8 mg QE/g madu			0,75 \pm 0,038586 atau 7,5 mg QE/g madu			0,68% \pm 0,029439 atau 6,8 mg QE/g madu		

Keterangan :

R : Replikasi

Flavonoid adalah salah satu golongan senyawa fenolik yang banyak terdapat dalam madu, yang terbentuk dari nektar bunga serta getah tanaman yang dikumpulkan oleh lebah, serta dapat pula berasal dari propolis (Kanno et al., 2009). Senyawa ini dikenal luas karena aktivitas antioksidannya yang kuat, yang berperan penting dalam melindungi tubuh dari kerusakan seluler akibat radikal bebas (Jakubczyk et al., 2020).

Kadar total flavonoid, yang biasanya dinyatakan dalam miligram

Ekuivalen Kuersetin per gram (mg QE/g), menjadi salah satu penentu utama potensi antioksidan pada madu. Pada tiga sampel Madu Amfoang Timur (7,8 mg QE/g), Tengah (7,5 mg QE/g), dan Selatan (6,8 mg QE/g) terdapat perbedaan yang sangat kecil ($\pm 0,3$ mg QE/g), sehingga dapat disimpulkan tidak ada perbedaan signifikan antar wilayah. Kemiripan ini kemungkinan dipengaruhi oleh kesamaan faktor iklim, seperti curah hujan, serta kondisi geografis di Amfoang Selatan, Timur, dan Tengah. Mengacu pada literatur (Albu & Simeon, 2022), kisaran kadar flavonoid yang baik adalah 5–10 mg QE/g, sehingga seluruh sampel madu tersebut masuk dalam kategori kualitas fitokimia yang serupa untuk madu dari wilayah ini. Kadar total flavonoid pada madu juga sangat bervariasi secara global, tergantung pada asal botani, wilayah geografis, dan kondisi lingkungan, dengan rentang umum dari 0,1 hingga lebih dari 50 mg QE/g (Gheldof et al., 2002). Untuk memberikan konteks, beberapa penelitian menerangkan Madu dari Uruguay memiliki kadar total flavonoid berkisar antara 0,12 hingga 2,98 mg QE/g (Aye et al., 2010). Studi madu dari Spanyol menunjukkan rentang antara 0,08 hingga 3,2 mg GAE/g (Fitriana et al., 2023). Meskipun satuannya GAE, nilai 7 mg QE/g jauh melampaui rentang tersebut.

Madu yang secara historis dikenal kaya antioksidan seperti madu *Buckwheat* dapat memiliki kadar flavonoid yang sangat baik, seringkali melebihi 10 mg GAE/g atau QE/g (Gheldof et al., 2002). Beberapa varietas madu Manuka juga dikenal dengan kandungan fenoliknya yang baik

(Kanno et al., 2009). Variasi kecil antar sampel atau perbandingan dengan nilai yang lebih baik dari analisis sebelumnya dapat disebabkan oleh berbagai faktor.

Perbedaan musiman atau mikro-lokasi panen di dalam wilayah Amfoang dapat mempengaruhi jenis dan proporsi tanaman berbunga yang dominan, sehingga memengaruhi komposisi nektar. Selain itu, kondisi iklim seperti curah hujan dan suhu selama musim panen juga dapat memengaruhi sintesis flavonoid dalam tanaman dan pada akhirnya mempengaruhi kandungan madu (Samarghandian et al., 2017).

Faktor-faktor pascapanen seperti metode pemrosesan dan kondisi penyimpanan juga berperan seperti pemanasan berlebihan atau paparan cahaya dapat menyebabkan degradasi senyawa bioaktif, meskipun flavonoid memiliki stabilitas yang relatif baik (Da Silva et al., 2016). Flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan menetralkan radikal bebas, mengkelat ion logam, dan menghambat reaksi oksidasi, yang semuanya penting dalam mencegah kerusakan seluler (Jakubczyk et al., 2020).

Kerusakan oksidatif merupakan penyebab utama penuaan dan berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, dan penyakit neurodegeneratif (Jakubczyk et al., 2020). Validasi metode spektrofotometri yang digunakan (termasuk linearitas, presisi, akurasi, dan selektivitas terhadap matriks madu) sangat penting untuk memastikan keandalan data ini dan memungkinkannya digunakan sebagai parameter kualitas yang robust (Harmita, 2004).

Analisis lebih lanjut, seperti identifikasi dan kuantifikasi flavonoid spesifik menggunakan HPLC, akan memberikan gambaran yang lebih detail mengenai profil fitokimia madu Amfoang selatan. Dari ketiga jenis madu, yang menunjukkan kadar total flavonoid yang baik adalah madu amfoang timur dengan $0,78\% \pm 0,032998$ atau $7,8 \text{ mg QE/g}$ madu. Mengingat bahwa flavonoid adalah kontributor utama aktivitas antioksidan, konsentrasi $7,8 \text{ mg QE/g}$ menunjukkan bahwa Madu Amfoang kaya akan senyawa-senyawa yang secara fungsional penting untuk melindungi tubuh dari stres oksidatif. Dengan demikian, madu ini dapat berperan dalam pencegahan atau mitigasi berbagai penyakit kronis yang terkait dengan radikal bebas, sesuai dengan potensi medicinal property yang ditekankan oleh (Kanno et al., 2009).

Madu Amfoang dengan kadar flavonoid yang baik berpotensi memberikan kontribusi signifikan terhadap kesehatan melalui perlindungan antioksidan serta sifat anti-inflamasi dan imunomodulator yang juga dikaitkan dengan flavonoid (Kanno et al., 2009). Madu dengan konsentrasi seperti ini dapat dianggap sebagai makanan fungsional. Kadar flavonoid yang baik adalah indikator penting dari kualitas fitokimia madu dan nilai fungsionalnya. ini dapat menjadi argumen kuat dalam pemasaran, menekankan bahwa Madu Amfoang adalah produk alami yang kaya akan senyawa bermanfaat.

Pengujian rutin akan membantu memastikan konsistensi kualitas produk dan mendukung klaim kesehatan yang dapat dipercaya, yang pada

akhirnya akan meningkatkan kepercayaan konsumen dan nilai produk di pasar (Da Silva et al., 2016).