



Propolis

Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis Lebah *Trigona Sp.*

Karina Khairunnisa¹, Efri Mardawati², Selly Harnesa Putri³

¹ Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran, karina15004@mail.unpad.ac.id

² Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran, efri.mardawati@unpad.ac.id

³ Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran, selly.h.putri@unpad.ac.id

ABSTRAK

Propolis adalah salah satu sumber antioksidan yang berasal dari hewan lebah, yang dikumpulkan oleh lebah madu (*stingless bee* atau *honey bee*) dan digunakan untuk membuat sarang serta untuk pertahanannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak propolis dari tiga jenis pelarut, yaitu air, etanol, dan metanol. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah propolis yang dihasilkan dari lebah *Trigona sp.* yang berasal dari Kabupaten Luwu, Provinsi Sulawesi Utara. Propolis akan di ekstrak menggunakan tiga jenis pelarut, yaitu air, etanol 70%, dan metanol 96%. Ekstrak yang diperoleh di uji secara kualitatif dengan uji Alkaloid, Flavonoid, Fenolik dan Tanin dan diuji kandungan total flavonoid, fenolik, dan tanin dengan metode Spektrofotometri UV-Visible. Kekuatan antioksidannya diukur dengan uji DPPH IC₅₀. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak propolis air, etanol, dan metanol positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan tanin. Hasil uji kuantitatif menunjukkan kandungan flavonoid total ekstrak air, etanol dan metanol secara berurutan adalah 0,17 %; 0,04 %; dan 0,15 %. Kandungan fenol total ekstrak air, etanol dan metanol secara berurutan adalah 0,39 %; 0,38%; dan 0,54%. Kandungan tanin total ekstrak air, etanol dan metanol secara berurutan adalah 0,95%; 1,03%; dan 1,0%. Hasil uji DPPH menunjukkan bahwa antioksidan propolis mempunyai potensi aktivitas antioksidan yang lemah, nilai IC50 masing-masing ekstrak air, etanol, dan metanol secara berurutan adalah 1145,75 ppm; 846,27 ppm; dan 447,01 ppm.

Kata Kunci: propolis, aktivitas antioksidan, flavonoid, polifenol, tanin

1. PENDAHULUAN

Propolis atau lem lebah merupakan suatu bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai macam jenis tumbuhan, terutama dari bagian kuncup dan daun. Propolis merupakan produk penting bagi lebah yang digunakan sebagai komponen pertahanan, sistem imun eksternal, dan antimikroba. Terdapat bermacam jenis lebah yang dapat menghasilkan propolis. Jenis lebah yang dikenal mampu menghasilkan propolis dalam jumlah banyak, yaitu lebah jenis *Trigona sp.* (Suranto, 2010). Lebah *Trigona sp.* merupakan jenis lebah asli Asia yang memiliki karakteristik spesifik, yaitu madu yang dihasilkan mempunyai rasa asam namun tahan terhadap fermentasi dan bersifat jarang sekali berpindah tempat, serta harga produk madunya lebih tinggi dibandingkan dengan madu produk lebah genus Apis.

Propolis banyak digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan alami pada saat ini. Senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya dapat memberikan efek positif pada tubuh. Senyawa bioaktif pada propolis kaya akan flavonoid dan fenoliknya (Segueni, Zellagui, Moussaoui, Lahouel, & Rhouati, 2016). Senyawa tersebut merupakan antioksidan yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. PROPOLIS

Propolis adalah lapisan tipis berwarna coklat yang menyelimuti kantung madu dan kantung *bee pollen*. Propolis adalah lem lebah yang digunakan sebagai pertahanan diri *Trigona* untuk melindungi diri dari serangan predator. Oleh karena itu, propolis diproduksi lebih banyak dari madu (Djajasaputra, 2010).

Komposisi propolis dipengaruhi oleh jenis, umur tumbuhan, dan darimana propolis tersebut berasal. Menurut Kaal (1991), komposisi propolis meliputi: resin dan balsem \pm 50%, lilin (wax) \pm 30%, minyak esensial \pm 10%, pollen \pm 5%, dan senyawa organik dan mineral \pm 5%.

2.2. SKRINING FITOKIMIA

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan hasil tanaman 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).

2.3. METODE UJI ANTIOKSIDAN DPPH

Penelitian ini menggunakan metode DPPH untuk menguji aktivitas antioksidan. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan, diantaranya mudah, sederhana, cepat, baik untuk sampel polaritas tertentu, sensitif dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Blouis, 1958). Larutan uji yang dibuat dalam berbagai konsentrasi untuk dilarutkan bersama DPPH bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam berbagai konsentrasi larutan dilihat dari perubahan warnanya. Radikal DPPH mudah didegradasi oleh cahaya, oleh karena itu inkubasi dilakukan di dalam tempat tertutup (Rouessac & A., 2004).

3. METODOLOGI

Penelitian dilakukan dengan mengekstrak propolis dengan 3 pelarut yang berbeda, yaitu air, etanol 70%, dan metanol 96%. Setelah didapatkan ekstrak pekat dari ketiga pelarut tersebut, diamati karakteristik fitokimianya secara kualitatif dan kuantitatif, dan diamati aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

3.1. EKSTRAKSI PROPOLIS

Ekstraksi propolis dilakukan dengan metode maserasi. Propolis pertama-tama diiris tipis menggunakan pisau sebanyak 50 g untuk masing-masing metode ekstraksi. Masing-masing propolis yang telah dicacah kemudian dimasukkan ke dalam blender dengan pelarut, diblender selama 3 menit.

3.2. UJI KARAKTERISTIK FITOKIMIA

Ekstrak propolis yang diperoleh diuji total flavonoid dengan menggunakan standar kuersetin. Sedangkan total asam fenolatnya dengan menggunakan standar asam gallat. Larutan diukur kadar total flavonoid dan total fenol dengan menggunakan alat spektrofometer UV-Vis pada panjang gelombang 422,5 nm.

3.2.1. Uji Kualitatif

a. Alkaloid

Ditimbang 0,1 g dampel propolis, lalu ditambahkan pereaksi Dragendroff. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat.

b. Flavonoid

Ditimbang 0,5 g sampel, dilarutkan dalam 2 mL metanol kemudian dipanaskan. Ditambahkan 3 mg logam Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika terbentuk warna kuning jingga, menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.

c. Fenolik

Ditimbang sampel propolis sebanyak 0,1 g ditambahkan FeCl_3 1% beberapa tetes. Adanya fenolik ditandai dengan warna merah / hijau / ungu / biru / hitam.

d. Tanin

Ditimbang sampel propolis sebanyak 0,1 g lalu ditambahkan 2 mL air dan dipanaskan selama 1-2 menit. Filtrat ditambahkan dengan larutan FeCl_3 1%. Jika terbentuk warna biru gelap atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

3.2.2. Uji Kuantitatif

a. Uji Total Flavonoid

Ditimbang 10 mg sampel dan dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, sebanyak 0,5 ml sampel uji ditambahkan dengan 0,1 mL aluminium (III) klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air suling. Di inkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan standar kuarsetin diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 436 nm. Flavonoid total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi kuarsetin yang telah diukur sebelumnya.

b. Uji Total Fenolik

Ditimbang 1 mg sampel uji, dilarutkan dalam 10 ml etanol sehingga diperoleh larutan sampel 1000 ppm. Sebanyak 0,5 ml larutan sampel uji ditambahkan dengan 5 ml pereaksi Folin-Ciocalteu (1:10) dan 4 mL natrium karbonat 1 M. Campuran dibiarkan selama 15 menit kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali. Fenol total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat yang telah diukur sebelumnya.

c. Uji Total Tanin

Ditimbang 0,5 gram sampel dan dilarutkan dengan aquabidestilata sampai 10 mL. Jika belum larut sempurna bisa dibantu dengan alat yang berfungsi untuk menghomogenkan larutan. Dipipet 1,0 mL sampel dengan seksama, dimasukkan ke dalam wadah berukuran 10 mL yang telah berisi 7,5 mL aquabidestilat. Ditambahkan 0,5 mL pereaksi folin denis, didiamkan selama 3 menit, ditambahkan 1,0 mL larutan Na₂CO₃ jenuh. Diinkubasi selama 15 menit, kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur.

3.3. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Dipipet masing-masing larutan uji sebanyak 2 mL, 1 mL, 0,5 mL, 0,25 mL, dan 0,125 mL dari larutan stok yang telah dibuat ke dalam tabung reaksi, lalu masing-masing ditambahkan metanol 0,5 mL DPPH 160 ppm dan dicukupkan volumenya dengan metanol PA hingga 2,5 mL. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 25°C ± 5°C selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer.

Sebagai blanko, larutan uji dipipet masing-masing sebanyak 2 mL, 1 mL, 0,5 mL, 0,25 mL, dan 0,25 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan metanol PA hingga 2,5 mL dan diinkubasi pada suhu 25°C ± 5°C selama 30 menit. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan persentase pengikatan radikal bebas dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan blanko}} \quad (1)$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Uji Kualitatif Fitokimia

Uji kualitatif fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak propolis dari pelarut air, etanol dan metanol. Pada penelitian ini, diuji keberadaan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik, dan tanin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga jenis ekstrak positif mengandung seluruh senyawa yang diujikan. Hasil uji kualitatif fitokimia dari ketiga pelarut tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Fitokimia

Jenis Ekstrak	Metode Uji	Keterangan
Air	Alkaloid	++++

	Flavonoid	++
	Fenolik	+++++
	Tanin	+++
Etanol	Alkaloid	+++
	Flavonoid	++
	Fenolik	++++
	Tanin	+++++
Metanol	Alkaloid	+++
	Flavonoid	++
	Fenolik	+++++
	Tanin	+++++

Keterangan:

(+) = Ekstrak mengandung golongan senyawa yang diuji (banyaknya + menandakan intensitas warna yang terbentuk).

() = Ekstrak tidak mengandung golongan senyawa yang diuji.

4.2. UJI KUANTITATIF FITOKIMIA

4.2.1. UJI TOTAL FLAVONOID

Penetapan kadar flavonoid total dihitung menggunakan kurva standar kuarsetin. Hasil dari penetapan kadar flavonoid menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 436 nm, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Total Flavonoid

Jenis Ekstrak	Konsentrasi Flavonoid (ppm)	Kadar Flavonoid (%)
Air	11,00	0,0348
Etanol	30,01	0,1704
Metanol	22,42	0,1416

Jika dilihat dari hasil tersebut, kandungan flavonoid total paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol, yaitu 30.01 ppm. Berdasarkan kepolarannya, flavonoid dan polifenol bersifat polar, sehingga akan ikut terekstraksi pada senyawa yang polar pula. Senyawa flavonoid paling banyak terdeteksi pada ekstrak propolis dengan pelarut paling polar yaitu etanol.

4.2.2. UJI TOTAL FENOLIK

Penetapan kadar flavonoid total dihitung menggunakan kurva standar asam galat. Hasil dari penetapan kadar fenolik dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Total Fenolik

Jenis Ekstrak	Konsentrasi Fenolik (ppm)	Kadar Fenolik (%)
Air	386,6	0,0348
Etanol	309,0	0,1704
Metanol	477,2	0,1416

Nilai kandungan total fenolik dari ekstrak propolis metanol, etanol dan air mempunyai nilai yang berbeda-beda. Sebagaimana yang terdapat dalam Tabel 8, nilai kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak propolis metanol dengan nilai 477,2 g asam galat/100 g propolis, yang kemudian diikuti oleh ekstrak propolis air dan etanol. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Iloki-Assanga et al. (2015), yang mengatakan bahwa metanol merupakan pelarut yang paling efektif dalam mengekstrak senyawa-senyawa fenolik.

4.2.3. UJI TOTAL TANIN

Kadar tanin diukur dengan menggunakan kurva standar tanin. Standar tanin yang digunakan yaitu asam tanat. Pemilihan asam tanat dikarenakan asam tanat merupakan golongan tanin terhidrolisis sehingga dapat digunakan sebagai pembanding dalam pengukuran kadar tanin total (Supriyanto, 2011). Hasil dari penetapan kadar tanin dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm, dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Total Tanin

Jenis Ekstrak	Konsentrasi Flavonoid (ppm)	Kadar Flavonoid (%)
Air	11.00	0.0348

Etanol	30.01	0.1704
Metanol	22.42	0.1416

Berdasarkan hasil uji, total tanin paling tinggi dihasilkan oleh ekstrak propolis air. Jumlah tanin yang tinggi pada ekstrak propolis air disebabkan karena senyawa tanin dapat larut dalam air. Tanin diklasifikasikan menjadi tanin terkondensasi dan tanin yang dapat dihidrolisis. Kedua kelompok tanin tersebut dapat larut dalam air walaupun terdapat sebagian tanin terkondensasi yang tidak dapat larut dalam air (Bele & Jadhav, 2016).

4.3. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DPPH

Penelitian ini menggunakan metode DPPH untuk menguji aktivitas antioksidan. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan, diantaranya mudah, sederhana, cepat, baik untuk sampel polaritas tertentu, sensitif dan

hanya membutuhkan sedikit sampel. Zat aktif yang terkandung dalam propolis ditarik dengan cara ekstraksi maserasi dengan beberapa pelarut polar. Hal ini dilakukan karena sifat flavonoid yang bersifat polar sehingga pelarut yang digunakan juga bersifat polar. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%, etanol 96%, dan air.

Larutan uji yang dibuat dalam berbagai konsentrasi untuk dilarutkan bersama DPPH bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam berbagai konsentrasi larutan dilihat dari perubahan warnanya. Radikal DPPH mudah didegradasi oleh cahaya, oleh karena itu, inkubasi dilakukan di dalam tempat tertutup.

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak propolis dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji DPPH Ekstrak Propolis

No	Jenis Ekstrak	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Intensitas
1	Air	1149,75	Sangat Lemah
2	Etanol	846,27	Sangat Lemah
3	Metanol	477,01	Lemah

Nilai aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC₅₀ adalah besarnya konsentrasi sampel uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi.

5. SIMPULAN DAN SARAN

Semua propolis yang diekstraksi dengan ketiga pelarut mengandung komponen flavonoid, fenolik, tanin, terpenoid, saponin, alkaloid, glikosida, dan gula pereduksi. Perolehan terbaik dari hasil ekstrak propolis meliputi kadar total flavonoid dari ekstrak etanol (30.01 ppm), total polifenol dari ekstrak metanol (477,2 g asam galat/100 g propolis), total tanin dari ekstrak air (28,57 ppm) dan kemampuan menghambat radikal bebas DPPH dari ekstrak

metanol (447,01 ppm). Berdasarkan sifat dan kandungan bahan kimianya ekstrak propolis pelarut metanol yang menghasilkan ekstrak propolis dengan karakteristik fitokimia, dan aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Saran dari penelitian ini adalah perlu dilanjutkan penelitian terhadap sifat propolis lainnya dalam ekstrak metanol terutama secara rinci kandungan flavonoid dalam propolis sehingga dapat ditentukan penggunaannya sebagai produk lanjutan.

6. DAFTAR PUSTAKA

Bele, A., & Jadhav, V. M. (2016). Potential of Tannins : A Review. *Asian Journal of Plant Sciences*, 209-214.

- Blouis, M. (1958). Antioxidant Determinations by The Use of a Stable Free Radical. *Nature, CLXXXI*.
- Djajasaputra, M. (2010). *Potensi Budidaya Lebah Trigona dan Pemanfaatan Propolis sebagai Antibiotik Alami untuk Sapi PO*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Kaal, J. (1991). *Natural Medicine from Honey Bees (Apitherapy)*. Amsterdam: Kaal's Printing House.
- RI, D. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Rouessac, F., & A., R. (2004). *Chemical Analysis: Modern Instrumentation, Methods and Techniques*. New Jersey: Willey.
- Segueni, N., Zellagui, A., Moussaoui, F., Lahouel, M., & Rhouati, S. (2016). Flavonoids from Algerian Propolis. *Arabian Journal of Chemistry*, 425-428.
- Supriyanto, R. (2011). Studi Analisis Spesiasi Ion Logam Cr(III) dan Cr(VI) dengan Asam Tanat dari Ekstrak Gambir Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *J.Sains MIPA*, 35-42.
- Suranto, A. (2010). *Dahsyatnya Propolis Untuk Menggempur Penyakit*. Jakarta: Media Pustaka.