

INTISARI

Keanekaragaman Polen, Metabolit Primer dan Metabolit Sekunder pada Madu *Apis cerana* dari Pulau Jawa

Madu merupakan cairan alami yang dihasilkan oleh lebah madu, termasuk salah satunya adalah *Apis cerana* (Fabricius, 1793). Penelitian keragaman polen dan senyawa kimia perlu dilakukan dalam rangka standardisasi kualitas madu lokal Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui keanekaragaman polen yang terdapat dalam madu yang dihasilkan lebah *A. cerana*. Penelitian ini juga bertujuan mengetahui senyawa kimia dalam madu, sehingga dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan. Sebanyak dua belas sampel madu yang diperoleh dari tiga propinsi di Pulau Jawa digunakan sebagai bahan penelitian. Analisis senyawa metabolit primer dilakukan dengan metode *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dengan menggunakan. Analisis kandungan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Hasil analisis menunjukkan adanya kandungan senyawa protein, karbohidrat, air, alkohol, selulosa, alkaloid, flavonoid, dan tanin dengan total kandungan senyawa kimia yang berbeda pada seluruh sampel madu. Perbedaan keragaman polen, senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder dalam sampel madu disebabkan oleh perbedaan sumber nektar, kondisi geografis, dan kondisi vegetasi di sekitar sarang lebah madu.

Kata kunci: melissopalinologi, madu, analisis polen, *A. cerana*

ABSTRACT

The Diversity of Pollen, Primary Metabolites and Secondary Metabolites in *Apis cerana* Honey from Java Island

Honey refers to a natural liquid produced by honeybees including the *Apis cerana* (Fabricius, 1793). The research on honey quality based on pollen diversity and chemical composition are crucial in order to develop a quality standard of local honey in Indonesia. The purpose of this study is to discover the diversity of pollen in the honey from *A. cerana*. The present study also aims to understand the chemical composition in the honey, particularly for medical purposes. 12 samples of honey from three provinces in Java Island were selected. The composition of primary and secondary metabolites were evaluated using Fourier Transform Infra Red (FTIR) attenuated total reflection (ATR) diamond and Ultra Violet-Visible spectrophotometry, respectively. The results of both methods showed the presence of protein, carbohydrate, water, alcohol, cellulose, alkaloid, tannin, and flavonoid, in all honey samples with various concentration. The variation of pollen diversity, primary metabolite and secondary metabolite in the honey is strongly affected by the botanical origin, geographical origin and the local condition around the honey comb.

Keywords: melissopalynology, honey, pollen analysis, *A. cerana*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Madu merupakan cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis, dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tumbuhan (*floral nectar*), bagian lain dari tumbuhan (*extrafloral nectar*), atau ekskresi serangga (BSN, 2004). Madu memiliki nilai gizi yang tinggi, diantaranya mengandung karbohidrat, protein, dan vitamin (Kasprzyk *et al.*, 2018). Selain itu, madu memiliki senyawa antioksidan dan antibakteri yang sangat baik untuk kesehatan tubuh dan dapat dikonsumsi baik oleh orang dewasa maupun bayi. Oleh sebab itu, madu memiliki nilai ekonomis yang tinggi, terutama di kalangan masyarakat Indonesia.

Indonesia sebagai negara tropis memiliki keanekaragaman hayati tumbuhan yang tinggi. Tumbuhan merupakan sumber utama nektar sebagai bahan baku berbagai jenis madu. Madu lokal Indonesia umumnya berasal dari hutan dan peternakan lebah yang dikelola masyarakat. Madu hutan di Indonesia umumnya diproduksi oleh lebah hutan jenis *Apis dorsata*, sedangkan madu peternakan di Indonesia umumnya diproduksi oleh lebah madu jenis *Apis mellifera* dan *Apis cerana*. Bahkan saat ini telah dikembangkan peternakan *Trigona* sp.

Analisis kualitas madu Indonesia berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) melalui Badan Standardisasi Nasional (BSN) terdiri atas persiapan contoh, aktivitas enzim diastase, hidroksimetilfurfural (HMF), kadar air, kadar gula pereduksi, kadar sukrosa, keasaman, padatan tak larut dalam air, kadar abu, *higiene*,

cemaran logam dalam makanan, dan cemaran arsen (BSN, 2004). Analisis tersebut terbatas pada analisis secara fisik dan biokimia, sedangkan analisis secara biologi belum dilakukan dan ditetapkan sebagai standar. Analisis kualitas madu secara biologi dapat berupa analisis keragaman polen yang terkandung dalam madu (Szczesna *et al.*, 2011).

Pada saat ini analisis kualitas madu secara lebih detil mulai dilakukan oleh peneliti di dunia (Kasprzyk *et al.*, 2018). Analisis tersebut meliputi pengujian secara biologi, seperti mengidentifikasi jenis dan jumlah polen yang terkandung dalam madu. Jenis dan jumlah polen yang terkandung dalam madu dapat menentukan kualitas suatu produk madu. Hal ini disebabkan, polen mengandung nutrisi yang lebih kompleks dibandingkan dengan nektar (komposisi utama madu), yang utamanya mengandung gula (fruktosa). Polen mengandung lemak dan protein (seperti Oleosin dan Caleosin) (Pasaribu *et al.*, 2017). Selain itu, polen mengandung karbohidrat, pektin, vitamin, mineral, dan selulosa (Mollet *et al.*, 2013; Campos *et al.*, 2008). Oleh sebab itu, diperlukan penelitian analisis polen untuk madu lokal Indonesia, sehingga diharapkan dapat meningkatkan kualitas dan daya saing madu lokal Indonesia baik dalam bidang kesehatan maupun ekonomi, seperti menaikkan nilai ekspor madu lokal Indonesia.

Berbagai negara misalnya Brazil, Swiss, Bulgaria, dan Polandia, sudah menetapkan standar kualitas madu dengan menggunakan data keragaman polen dalam setiap produk madu yang dipasarkan (Campos *et al.*, 2008). Di Swiss, setiap madu yang dipasarkan harus mengacu pada Swiss Food Manual: Pollen Bienenprodukte, BAG-Swiss Federal Office for Public Health, sedangkan di

Bulgaria harus berdasarkan Bulgarian Standard 2567111-91. Standar kualitas tersebut antara lain berisi daftar polen dan persentase kandungan jenis polen yang terdapat dalam satu kemasan produk madu yang dipasarkan (Campos *et al.*, 2008).

Pada saat ini pengujian kualitas madu semakin berkembang. Sebagai contoh, di Polandia, pengujian kualitas madu dilakukan dengan menghitung jumlah polen dan membandingkan senyawa kimia polen asli dengan polen yang ada di madu dengan metode *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dengan menggunakan *attenuated total reflection* (ATR) *diamond* (Kasprzyk *et al.*, 2018). Metode yang mirip juga telah digunakan di Kroasia, kualitas madu ditentukan dari perbandingan senyawa kimia madu dengan senyawa kimia polen dan nektar menggunakan FTIR ATR (Svečnjak *et al.*, 2017). Selain analisis senyawa kimia madu dengan menggunakan FTIR ATR *diamond*, metode Spektrofotometri Ultraviolet dan Visibel (UV-Vis) juga dapat digunakan dalam analisis tersebut. Metode Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia, khususnya metabolit sekunder, seperti flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan tanin, yang ada pada suatu tumbuhan (mengingat madu mengandung nektar dan polen yang berasal dari tumbuhan) (Aminah, dkk., 2016).

Di Indonesia, sampai saat ini Badan Standardisasi Negara (BSN) belum memiliki standardisasi madu berdasarkan keragaman polen, melainkan hanya berdasarkan kandungan senyawa kimia dan organoleptik. Oleh sebab itu, belum banyak madu dari Indonesia yang dapat dipasarkan secara internasional karena belum mampu bersaing dan mengikuti standardisasi dunia. Hal tersebut menjadi

pendorong bagi Indonesia untuk menyusun standar kualitas madu yang bersifat *world wide pollen standard* untuk mempromosikan madu Indonesia di pasar internasional dan mengurangi praktek peredaran madu palsu yang justru dapat merugikan bagi masyarakat Indonesia, utamanya di bidang kesehatan.

B. Permasalahan

Berdasarkan latar belakang di atas, perumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana keragaman polen dalam madu yang dihasilkan oleh lebah madu *A. cerana*?
2. Apa saja kandungan senyawa kimia dalam madu yang dihasilkan oleh lebah madu *A. cerana*?

C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman polen yang terdapat dalam madu. Analisis polen dapat dijadikan sebagai analisis tambahan secara biologi dalam penentuan kualitas madu lokal. Penelitian ini juga bertujuan untuk identifikasi kandungan senyawa kimia, baik metabolit primer maupun metabolit sekunder, yang terkandung dalam madu, sehingga menunjang pemanfaatannya dalam bidang kesehatan.

Penelitian ini secara ilmiah memiliki manfaat untuk memberikan informasi ilmiah dan mengetahui jenis polen apa saja yang terdapat pada madu, sehingga dapat digunakan dalam penyusunan standar kualitas madu di Indonesia.

Penyusunan standar tersebut dapat dilakukan dengan menambahkan indikator biologi, dalam hal ini keragaman polen, selain indikator fisik dan biokimia untuk mencapai *world wide pollen standard*. Di masa mendatang diharapkan dengan adanya peningkatan standar kualitas madu tersebut, nilai ekspor madu lokal dapat meningkat dan dapat berguna dalam mempromosikan dan mengangkat produk madu lokal ke pasar internasional.

D. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini meliputi, analisis kualitas madu berdasarkan keragaman polen sebagai analisis tambahan secara biologi dalam standardisasi kualitas madu, dan identifikasi senyawa kimia dalam madu menggunakan metode FTIR ATR *diamond* dan Spektrofotometri UV-Vis. Sampel madu yang digunakan berasal dari peternakan lebah madu *A. cerana* di wilayah Kulonprogo dan Gunung Kidul (Yogyakarta); Cilacap, Solo, Magelang, dan Karanganyar (Jawa Tengah); serta Depok (Jawa Barat).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

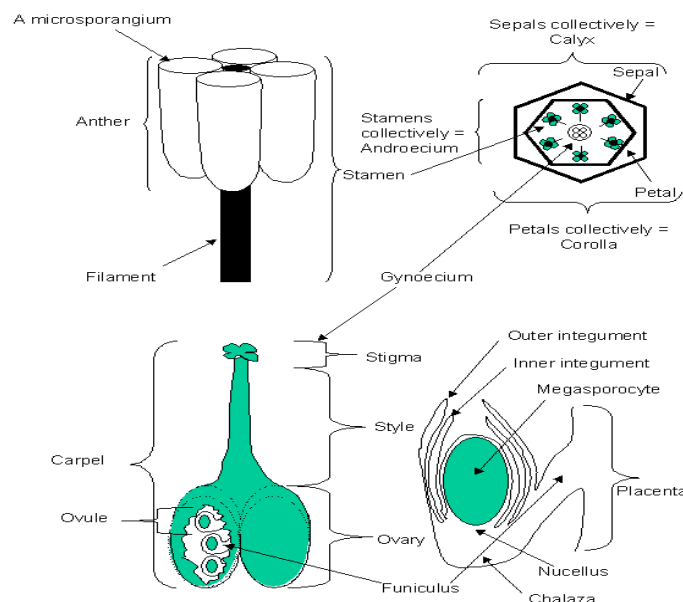
A. Polen

1. Biologi Polen

Polen adalah serbuk yang diproduksi tumbuhan berbunga dan mengandung sel-sel reproduktif jantan; dibawa oleh agen *pollinator*, seperti serangga, kelelawar, mamalia kecil, maupun angin yang kemudian menyerbuki bunga lain. Walker (1999) menyatakan bahwa serbuk sari merupakan alat penyebaran dan perbanyakan generatif tumbuhan berbunga. Sebagaimana pada Gambar 1, secara sitologi serbuk sari merupakan sel dengan tiga nukleus, yang masing-masing dinamakan inti vegetatif, inti generatif I, dan inti generatif II. Sel dalam serbuk sari dilindungi oleh dua lapisan (disebut *intine* untuk yang di dalam dan *exine* yang di bagian luar), untuk mencegahnya mengalami dehidrasi. Menurut Faegri and Iversen (1989) ukuran polen bervariasi antara 5 mikron sampai lebih dari 200 mikron, tetapi sebagian besar polen berukuran antara 20–50 mikron. Menurut Erdtman (1952), bentuk, ukuran, ataupun tipe polen dapat bervariasi menurut tahap kematangannya. Ukuran polen yang berasal dari individu tumbuhan yang berbeda dalam satu spesies juga dapat disebabkan oleh perbedaan fokus optik pengamat.

Menurut Hasanuddin (2011), stigma telah mencapai tahap reseptif adalah apabila telah menyediakan media yang cocok untuk penyerbukan dan perkecambahan polen. Selanjutnya, polen dikatakan matang apabila telah terbentuk

sel generatif atau sel sperma di dalamnya dan polen itu telah memiliki daya viabilitas. Masa kematangan stigma dan polen pada sebagian besar tumbuhan berbunga terjadi dalam waktu singkat, yaitu antara 1–3 hari. Bahkan ada beberapa spesies tumbuhan, yang masa kematangan stigma dan polen hanya terjadi dalam beberapa jam saja (Heslop-Harrison dan Heslop-Harrison, 1970). Pada beberapa spesies tumbuhan, seperti *Azadiracta indica*, *Averhoa carombala*, dan *Durio zibethinus*, kematangan stigma dan polen terjadi dalam waktu yang berbeda, yaitu polen lebih dahulu mencapai viabilitas sementara stigma belum mencapai tahap matang (Soepadmo, 1989). Gejala itu merupakan suatu kendala yang dapat menyebabkan kegagalan dalam penyerbukan dan pembuahan baik alami maupun buatan, dan akhirnya dapat mengakibatkan gagalnya produksi buah (Garwood and Horvitz, 1985).



Gambar 1. Pembentukan Polen (Fourier, 2007)

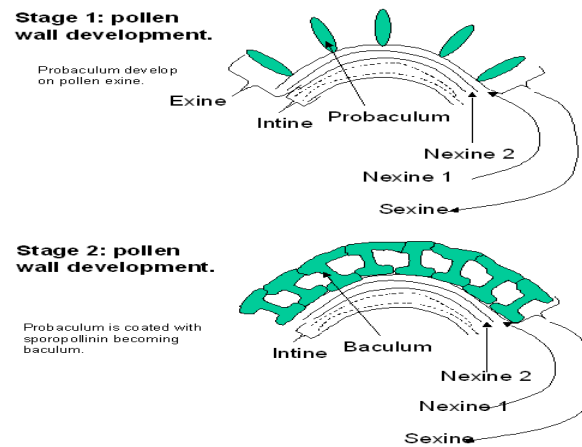
2. Struktur Polen

Struktur dinding polen ditampilkan pada Gambar 2. Dinding polen terdiri atas bagian exine, intine, dan nexine. Dinding polen berfungsi untuk melindungi inti sperma tumbuhan dari proses desikasi dan iradiasi selama perpindahan dari anthera menuju ke stigma. Butir polen yang kecil dilapisi oleh lilin (wax) dan protein yang berupa elemen skulptura (Davis, 1999). Menurut Faegri dan Iversen (1989) polen mempunyai dua lapis dinding sel, yaitu lapisan dalam (intine) dan lapisan luar (exine). Intine tersusun atas pektoselulosa yang tipis dan mengelilingi butir polen yang masak, dan exine merupakan lapisan di luar intine yang komponen utamanya adalah sporopelenin, suatu substansi keras yang memberikan daya tahan yang hebat kepada dinding butir polen (Fahn, 1991). Variasi bentuk exine pada setiap jenis tumbuhan berbeda, bahkan dapat menunjukkan karakter suatu spesies atau famili tumbuhan tertentu. Variasi tersebut seperti pada Gambar 3. Menurut Davis (1999), sporopolenin merupakan biopolimer seperti karotenoid yang mempunyai resistensi tinggi terhadap proses kimia yang dapat menyebabkan menurunnya kualitas polen, selain oksidasi.

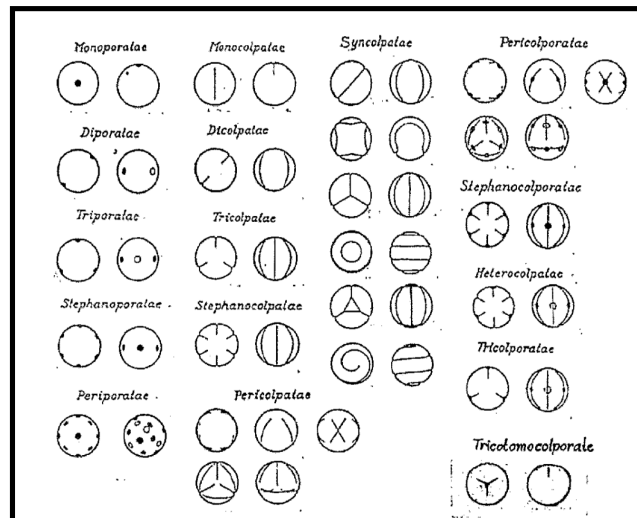
Apertura adalah suatu penipisan atau modifikasi dinding spora atau polen yang berfungsi sebagai jalan untuk keluarnya isi polen (Davis, 1999). Menurut Esau (1953), apertura ini tidak sepenuhnya membuka tapi merupakan tempat dimana exine sangat tipis dan intine berkembang dengan baik. Buluh polen muncul melalui apertura selama perkecambahan polen, yaitu dengan mendorong intine ke samping. Apertura dapat berupa alur (colpi) dan pori, dimana susunan dan jumlah pori dan alur merupakan kriteria penting dalam klasifikasi polen (Davis, 1999). Tipe

ornamentasi antar spesies tumbuhan bervariasi seperti yang terdapat dalam Gambar

4.



Gambar 2. Struktur Dinding Polen dari Luar ke Dalam (Fourier, 2007)



Gambar 3. Tipe Apertura Butir Polen (Kapp, 1969)