

## UJI AKTIVITAS ENZIM DIASTASE, HIDROKSIMETILFURFURAL (HMF), KADAR GULA PEREDUKSI, DAN KADAR AIR PADA MADU HUTAN BATTANG

Ariandi<sup>1)</sup>, Khaerati<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Dosen Program Studi Biologi, Fakultas Sains, Universitas Cokroaminoto Palopo

<sup>2)</sup> Dosen Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Cokroaminoto Palopo, Sulawesi Selatan

### ABSTRACT

Honey is a natural liquid that generally has a sweet taste produced by honey bee (*Apis* sp.) from plant flower extract (flora nectar) or other parts of the plant (extra floral) (SNI 01-3545-2013). Bees sucked a variety of flowers and fruit juice, collected in the body, then taken to the nest and formed into honey. Honey can be used to a drug because it contains antioxidants and antimicrobials. Sweet and bitter honey were mostly produced by *Apis dorsata* forest bee species in the forest of Battang which now can not be cultivated properly. Characteristics of physical and chemical quality of honey vary depending on internal and external factors. Internal factors include the type of interest. External factors are like seasons, soil conditions and geographical location as well as processing and storage. Diastase enzymes, hydroxymethylfurfural (HMF), reducing sugars and moisture content, have important parameters for the quality of honey. This study aims to determine the quality of honey based on diastase enzyme activity test, HMF test, reducing sugar content and moisture content in two samples of Battang forest honey. The results showed that diastase enzyme activity 5,06 DN and hydroxymethylfurfural were not detected in honey sweet sample of Battang forest and have fulfilled honey quality requirement based on SNI 01-3545-2013. The result of moisture content analysis 22,96% and reducing sugar level 64, 91% almost reach the standard quality requirement of honey. The bitter honey sample of Battang forest, only hydroxymethylfurfural (not detected) analysis has fulfilled the quality requirement of honey based on SNI 01-3545-2013, but diastase enzyme activity <1 DN, moisture content 31,11% , and the reducing sugar content of 54,75% don't qualified based on SNI 01-3545-2013 standard.

Key words: *Quality Battang Forest Honey, diastase, HMF, reducing sugar, moisture content*

### 1. PENDAHULUAN

Madu merupakan salah satu bahan pengobatan luka dari zaman dahulu yang kembali diperkenalkan pada pengobatan modern di Australia dan Eropa yang diikuti dengan pengembangan regulasi produk-produk perawatan luka. Khasiat terapeutiknya dihubungkan dengan aktivitas antimikroba dan kemampuannya untuk menstimulasi penyembuhan luka dengan cepat (Cooper, 2007). Madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar) atau ekskresi serangga (Gebremariam, 2014). Madu mengandung sejumlah 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 non-enzimatik

Hutan yang terdiri dari berbagai tanaman akan mempengaruhi lebah untuk mengambil nektar dari beberapa bunga sehingga madu hutan biasanya dihasilkan dari nektar multiflora, yaitu tidak hanya dikhususkan satu tanaman saja. Beberapa kawasan hutan Indonesia merupakan penghasil madu hutan diantaranya pulau Sumbawa, Provinsi Riau (Kawasan Hutan Taman Nasional Tesso Nilo), Provinsi Kalimantan Barat, Provinsi Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tenggara (Hadisoesilo *et. al.* 2011). Di Sulawesi Selatan, khususnya kota Palopo dikelurahan Battang merupakan daerah penghasil madu hutan yang belum dipasarkan secara luas hanya terbatas di wilayah Palopo. Madu didaerah ini memiliki tiga jenis rasa, yaitu madu manis, madu asam dan madu pahit. Madu dihasilkan dari nektar yang berasal dari bunga pohon durian, mahoni, mangga, rambutan, langsung, dan bunga lainnya. Madu hutan yang diproduksi oleh hutan Battang berasal dari lebah hutan jenis *Apis dorsata* yaitu salah satu spesies lebah hutan yang hidupnya liar. Kualitas madu ditentukan oleh beberapa hal di antaranya waktu pemanenan madu, kadar air, warna, rasa dan aroma madu. Waktu pemanenan madu harus dilakukan pada saat yang tepat, yaitu ketika madu telah matang dan sel-sel madu mulai ditutup oleh lapisan lilin, madu tersebut telah memenuhi syarat kadar air dan siap untuk dipanen (Suranto, 2004).

<sup>1</sup> Korespondensi : Ariandi, Telp 082190797971, ariandi.manda@gmail.com

Selain itu, kadar air yang terkandung dalam madu juga sangat berpengaruh terhadap kualitas madu. Madu yang baik adalah madu yang mengandung kadar air sekitar 17-21% (Sihombing, 2005). Standar kualitas madu ditentukan berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 3545:2013. Standar tersebut merupakan kriteria dari mutu madu yang telah ditetapkan oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN) dan merupakan hasil revisi dari SNI tentang syarat mutu madu tahun 2013.

Parameter penentu kualitas madu berdasarkan SNI 01-3545-2013, diantaranya adalah enzim diastase, hidroksimetilfurfural (HMF), gula pereduksi dan kadar air. Komponen utama madu adalah karbohidrat dari golongan monosakarida yang terdiri atas glukosa dan fruktosa, kedua monosakarida tersebut diistilahkan sebagai gula pereduksi dalam pengujian mutu madu menurut SNI. Kandungan gula pereduksi (dihitung sebagai glukosa) pada madu yang disyaratkan yaitu minimal 60%. Enzim diastase merupakan enzim yang ditambahkan lebah pada saat pematangan madu, sehingga keberadaan enzim diastase dapat dijadikan indikator untuk melihat kemurnian madu. Aktivitas enzim tersebut akan berkurang akibat dari penyimpanan dan pemanasan madu. Indikator lain yang diperlukan untuk menentukan apakah madu telah mengalami proses pemanasan yaitu dengan memperhatikan nilai 5-hidroksimetilfurfural (HMF), selanjutnya kadar air madu yang ditentukan SNI adalah 22%, kadar air dalam madu dapat menentukan keawetan madu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mutu madu berdasarkan uji aktivitas enzim diastase, hidroksimetilfurfural, kadar gula pereduksi dan kadar air pada madu hutan Battang kota Palopo.

## 2. METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan adalah madu manis dan madu pahit yang diperoleh dari hutan Battang kota Palopo. Bahan-bahan yang digunakan adalah reagen Luff Schoorl, larutan KI 20%, larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N, HCl 25%, larutan kanji 0,5% dan 1%, larutan NaOH 4 N, indikator fenolftalin, larutan (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10%, larutan iod 0,0007 N, NaCl 0,5 M, buffer asetat, larutan Carrez, NaHSO<sub>3</sub> 0,20% dan alkohol. Alat yang digunakan adalah neraca analitik, spektrofotometer, refraktometer, penangas air, erlenmeyer, pipet, termometer, tabung reaksi, labu ukur, *stopwatch* dan peralatan titrasi. Metode pengolahan data yang digunakan berdasarkan hasil data yang dianalisis dilaboratorium ditabulasikan dan dijelaskan secara deskriptif. Analisis aktivitas enzim diastase, hidroksimetilfurfural, dan kadar air menggunakan SNI 01-3545-2013 dan analisa gula pereduksi menggunakan metode Luff Schoorl berdasarkan SNI 01-2892-1992.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

No.	Jenis Uji	SNI 01-3545-2013		Sampel Madu	
		Satuan	Persyaratan	Madu Manis Hutan Battang	Madu Pahit Hutan Battang
1	Aktivitas Enzim Diastase	DN	min 3	5,06	< 1
2	Gula Pereduksi (dihitung sebagai glukosa)	% b/b	min 65	64,91	54,75
3	Hidroksimetilfurfural (HMF)	mg/kg	maks 50	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
4	Kadar Air	% b/b	maks 22	22,96	31,11

### Enzim Diastase

Menurut Standar Mutu Madu dan Standar Internasional, dari Komisi Madu Internasional, aktivitas diastase tidak boleh kurang dari atau sama dengan 8, dinyatakan sebagai nomor diastase (DN). DN dalam skala Schade, yang sesuai dengan nomor skala Gothe, didefinisikan sebagai total gram pati yang terhidrolisis dalam 1 jam pada 40°C per 100 gram madu. Codex Alimentarius (2001) telah menetapkan nilai aktivitas minimum diastase 3, untuk madu alam dengan kandungan enzim rendah. Pada madu dengan DN kurang dari 8 dan lebih tinggi dari atau sama dengan 3, HMF tidak boleh lebih tinggi dari 15 mg/kg. Jika DN sama dengan atau lebih tinggi dari 8, batas HMF adalah 60 mg/kg.

Pada penelitian ini enzim diastase madu manis Battang senilai 5,06 DN sesuai dengan syarat mutu madu SNI 01-3545-2013, sedangkan aktivitas enzim diastase madu pahit Battang <1 DN, nilai tersebut sangat rendah dibandingkan dengan aktivitas enzim diastase madu manis, hal ini disebabkan karena sampel madu pahit dipanen pada saat musim hujan sehingga lebih encer dan disimpan satu minggu sebelum dilakukan pengujian dilaboratorium. Semakin lama penyimpanan madu dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim diastase atau enzim diastase menjadi tidak aktif. Enzim diastase adalah enzim yang mengubah karbohidrat kompleks (polisakarida) menjadi karbohidrat yang sederhana (monosakarida) (Suranto, 2004). Enzim diastase ditambahkan oleh lebah pada saat pematangan madu. Enzim ini hanya terdapat pada madu yang baru dipanen atau madu murni tanpa pengolahan. 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 (Achmadi, 1991). Pemanasan pada suhu di atas 40°C menyebabkan aktivitas enzim diastase menurun bahkan pada suhu tinggi menyebabkan enzim tersebut menjadi tidak aktif dan semakin lama penyimpanan dapat menyebabkan enzim tersebut menjadi tidak aktif.

### **Kadar Gula Reduksi**

Komponen utama madu adalah karbohidrat dari golongan monosakarida yang terdiri atas glukosa dan fruktosa. Dalam pengujian mutu madu menurut SNI, kedua monosakarida tersebut diistilahkan sebagai gula pereduksi. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa sampel madu hampir memenuhi syarat mutu madu SNI 01-3545-2013. Menurut SNI syarat mutu gula pereduksi minimal adalah 65%. Pada sampel madu manis kadar gula pereduksi adalah 64,91% dan sampel madu pahit adalah 54,75%. Kucuk *et. al.* (2007) menyatakan bahwa perbedaan kandungan gula pereduksi dapat terjadi karena madu yang belum matang sudah dipanen padahal proses inversi oleh enzim invertase lebah dari sukrosa nektar menjadi glukosa dan fruktosa pada madu belum sempurna. Penyebab lain yang bisa terjadi adalah karena adanya pencampuran dengan zat-zat lain (sukrosa atau air) sehingga gula reduksi menjadi lebih rendah. Oleh karena itu SNI madu mensyaratkan kandungan sukrosa dalam madu kurang dari 5%. Rendahnya kadar glukosa bisa disebabkan karena telah terjadinya proses fermentasi pada madu yang dapat dilakukan oleh khamir dari genus *Zygosaccharomyces* (Kuntadi, 2002).

### **Hidroksimetilfurfural (HMF)**

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3545-2013 HMF dalam madu maksimal 50 mg/kg. Kadar HMF ini dapat menjadi indikator kerusakan madu oleh pemanasan yang berlebihan. Hasil penelitian menunjukkan sampel madu manis dan madu pahit Battang tidak terdeteksi kandungan hidroksimetilfurfural, hal tersebut menunjukkan bahwa madu Battang merupakan madu murni tanpa mengalami proses pemanasan dan tidak mengandung gula tambahan. Menurut Achmadi (1991), menyatakan bahwa HMF merupakan hasil dekomposisi glukosa, fruktosa dan monosakarida lain yang memiliki enam atom C yang dalam suasana asam dan pembentukannya dapat dipercepat dengan bantuan panas. Selama persiapan dan penanganannya, madu hanya boleh dipanaskan semiminal mungkin, untuk memeriksa derajat pemanasan madu, dapat dilakukan analisa terhadap keaktifan enzim diastase dan kadar 5-hidroksi-metilfurfural. Bila keaktifan diastase menurun dan kadar HMF meningkat sampai batas yang diizinkan berarti ada pemanasan berlebihan, sehingga kualitas madu menurun. Bahkan bila keaktifan diastase sampai 0, kemungkinan madunya palsu atau tiruan. Demikian juga bila kadar HMF >40mg/kg madu kemungkinan adanya pemalsuan dengan gula invert. Madu asli akan memiliki sifat optis aktif ke kiri, tapi bila ada pemalsuan dengan cara penambahan gula invert atau gula pasir, maka akan memutar ke kanan. (Maun, 1999)

### **Kadar Air**

Kadar air dalam madu menentukan kualitas madu, apabila kadar airnya tinggi maka kualitas madu menjadi rendah. Kadar air madu dipengaruhi oleh iklim, dan penanganan pasca panen (Gairola *et al.* 2013). Standar Nasional Indonesia (SNI 3545:2013) menyebutkan bahwa kadar air madu yang baik maksimal 22%. Hasil analisis laboratorium menunjukkan bahwa kedua sampel madu Battang mempunyai kadar air melebihi batas SNI 2013 (maksimum 22%). Tingginya kadar air madu tidak mengindikasikan adanya pemalsuan madu dengan penambahan air, tetapi disebabkan karena pada saat panen sarang lebah tersebut belum semua madu tertutup lilin. Pada umumnya pemanenan madu dari jenis lebah *Apis dorsata* yang biasa dilakukan pemungut madu dengan mengambil semua sisiran tanpa memisahkan sisiran madu yang sudah tertutup dan belum tertutup (Ajeng *et al.* 2014). Prasetya dan Andi (2014) menjelaskan bahwa kandungan kadar air yang

tinggi pada madu akan merangsang aktifitas khamir untuk tumbuh dan berkembang dalam madu. Umur panen juga mempengaruhi komposisi air pada madu. Madu yang dipanen pada umur tua mempunyai kadar air lebih sedikit daripada madu yang dipanen pada umur yang lebih muda. Semakin lama madu dalam sarang lebah maka penguapan kadar air pada madu akan semakin sempurna. Pematangan madu ditandai dengan tertutupnya sel madu oleh lilin.

Madu murni di Indonesia yang baru diambil dari sarangnya biasanya memiliki kandungan air sebanyak 25% dari beratnya dan biasanya mencapai 33% jika terkontaminasi udara luar (Bogdanov *et.al.* 2004). Indonesia mempunyai kelembaban yang tinggi yakni berkisar 60-90% (Sihombing, 2005). 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% (Sarwono, 2007). 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.

#### 4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim diastase dan hidroksimetilfurfural sampel madu manis hutan Battang telah memenuhi syarat mutu madu menurut SNI 01-3545-2013, tetapi hasil analisis kadar air dan kadar gula pereduksi hampir mencapai standar syarat mutu madu SNI 01-3545-2013, sedangkan sampel madu pahit hutan Battang, hanya analisis hidroksimetilfurfural yang telah memenuhi syarat mutu madu, kadar air, enzim diastase dan kadar gula pereduksi tidak memenuhi standar SNI 01-3545-2013

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S., 1991, *Analisis Kimia Produk Lebah Madu dan Pelatihan Staf Laboratorium Pusat Perlembahan Nasional Parung Panjang*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Institut Pertanian Bogor.
- Ajeng P., Minarti S., Junus M., 2014, *Perbandingan Kadar Air Dan Aktivitas Enzim Diastase Madu Lebah Apis mellifera Di Kawasan Pengembangan Mangga (Mangifera indica) Dan Kawasan Pengembangan Karet (Hevea brasiliensis)*, Universitas Brawijaya, Malang.
- Badan Standarisasi Nasional, SNI 01-2892-1992, *Cara Uji Gula*, Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional, SNI 01-3545-2013, *Madu*, Jakarta.
- Bogdanov, S.K. Ruoff. and L. Persano Oddo, 2004, *Physico-Chemical Methods for The Characterisation of Unifloral Honeys*, A Review. *Apidologie* 35: s4-s17.
- Codex Alimentarius, 2001, *Codex Alimentarius Standard for Honey: Draft Revised, Alinorm 01/25 19-26*, FAO and WHO, Rome.
- Cooper, R., 2007, *Honey in Wound Care: Antibacterial Properties*, *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär*, 2(2).
- Gairola A., Tiwari P., Tiwari JK., 2013, *Physico-Chemical Properties of Apis cerana-indica, Honey From Uttarkashi District of Uttarakhand, India*. *J. Global Biosci* 2 (1): 20-25.
- Hadisoesilo, S., Kahono, S dan Suwandi, 2011, *Potensi Lebah Madu Hutan Apisdorsata Di Kawasan Hutan Taman Nasional Tesso Nilo, Riau dan Kabupaten Sumbawa, Nusa Tenggara Barat*, Pontianak.
- Kucuk, M., Kolaylı S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F., 2007, *Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types From Anatolia*, *Food Chemistry*, 100(2), 526-534.
- Kuntadi, 2002, *Madu Komposisi Sifat dan Khasiatnya*, Sylva Tropika Informasi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Populer No. 07 Edisi November 2002, Jakarta.
- Maun, Sukmariah, 1999, *Pemalsuan Madu Dengan Sakarosa*, *Jurnal Kedokteran Trisakti*. Januari: 18 (1).
- Prasetya and Andi, B., 2014, *Perbandingan Mutu Madu Lebah Apis mellifera Berdasarkan Kandungan Gula Pereduksi Dan Non Pereduksi Di Kawasan Karet (Hevea brasiliensis) Dan Rambutan (Nephelium Lappaceum)*, Universitas Brawijaya, Malang.
- Sarwono, B., 2007, *Lebah Madu*, AgroMedia Pustaka, Jakarta Selatan.
- Sihombing, D., 2005, *Ilmu Ternak Lebah Madu*, Gajah Mada Universitas Press, Yogyakarta.
- Suranto, A., 2004, *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*, Agro Media Pustaka, Jakarta.