

EVALUASI KANDUNGAN VITAMIN C DALAM MADU RANDU DAN MADU KELENGKENG DARI PETERNAK LEBAH DAN MADU PERDAGANGAN DI KOTA SEMARANG

Aqnes Budiarti¹⁾, Sumantri¹⁾, Diah Fahmisul Istyaningrum¹⁾

1) Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

INTISARI

Madu merupakan produk alam yang mengandung beberapa vitamin, termasuk vitamin C yang mempunyai peranan penting untuk menjaga kesehatan, antara lain membantu proses penyembuhan luka, meningkatkan daya tahan tubuh melawan infeksi dan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan vitamin C serta besarnya kadar vitamin C dalam madu randu dan madu kelengkeng dari peternak lebah dan madu perdagangan di Kota Semarang menggunakan KCKT.

Sampel berupa tiga madu randu dan tiga madu kelengkeng yang berasal dari peternak lebah yang berbeda (Ambarawa, Ngaliyan, Gringsing) dan madu perdagangan di Kota Semarang. Kondisi operasional KCKT (waters ec 2695) menggunakan fase diam kolom C₁₈ (sunfire C₁₈ 5µm; 4,6x150 mm), dan fase gerak berupa campuran dapar fosfat pH 3,6 dan asetonitril dengan perbandingan 70 : 30, v/v, dengan laju alir 0,5 ml/menit. Deteksi menggunakan detektor UV (uv/vis water 2489) pada panjang gelombang 260 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar rata-rata vitamin C dalam madu randu dari peternak lebah dan madu randu perdagangan di Kota Semarang masing-masing adalah 0,034% dan 0,016%, sedangkan untuk madu kelengkeng masing-masing adalah 0,027% dan 0,032%. Kadar rata-rata vitamin C ke duabelas sampel madu mengandung vitamin C, tetapi terdapat dua sampel yang tidak mengandung vitamin C. Kadar vitamin C madu randu dan madu kelengkeng yang berasal dari peternak lebah dan madu perdagangan di Kota Semarang tidak berbeda secara bermakna.

Kata kunci : vitamin C, madu randu, madu kelengkeng, KCKT

ABSTRACT

Honey is a natural product that containing several vitamins, including vitamin C, which has an important role to maintain health, among others helps healing wound, increase body resistance fight infection and as antioxidant. This research aimed to determine the levels of vitamin C in the cottonwoods honey and longan honey from beekeepers and honey trade in the city of Semarang using HPLC.

Samples consisted of three samples of honey and three cottonwoods honey and longan honey from beekeepers different (Ambarawa, Ngaliyan, Gringsing) and honey trade in the city of Semarang. HPLC (waters ec 2695) operational conditions is equipped stationary phase C₁₈ column (C₁₈ 5µm sunfire; 4.6 X150 mm), and the mobile phase is a mixture of phosphate buffer pH 3.6 and acetonitrile with the ratio 70: 30, v / v, flow rate of 0.5 ml / min. Detection use UV detector (UV / vis water in 2489) at 260 nm wavelength.

Research results showed that the average levels of vitamin C in the cottonwoods honey from beekeepers and honey cottonwoods trade in the city of Semarang are 0,034% and 0,016%, while for longan honey respectively 0,027% and 0,032%. The average level of the twelve samples of honey contain vitamin C, but there are two samples that does not contain vitamin C. There was no significant difference between the levels of vitamin C and cottonwoods honey and longan honey from beekeepers and honey trade in the City of Semarang.

Key words: vitamin C, cottonwoods honey, longan honey, HPLC

PENDAHULUAN

Madu telah dikenal sebagai salah satu bahan makanan atau minuman alami yang mempunyai peranan penting dalam kehidupan dan kesehatan sejak ribuan tahun yang lalu hingga sekarang (Anonim, 2004). Madu merupakan

produk alam yang mengandung bahan gizi yang sangat essensial. Madu bukan hanya sebagai bahan pemanis atau penyedap makanan, tetapi sering pula digunakan untuk obat-obatan. Madu dapat digunakan untuk menghilangkan rasa lelah dan dapat pula digunakan untuk menghaluskan kulit serta merawat rambut (Purbaya, 2002).

Madu umumnya memiliki rasa manis, nilai gizinya tinggi, dan sangat berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit. Setiap orang dapat mengkonsumsi madu, baik anak-anak, orang dewasa, maupun manula. Banyak bahan makanan atau minuman lain yang dicampur dengan madu untuk meningkatkan khasiat makanan atau minuman tersebut (Suranto, 2004). Madu selain digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, juga digunakan untuk meningkatkan stamina, energi dan juga untuk kecantikan (Wirakusumah, 2010).

Madu yang baik harus memenuhi ketentuan yang ditetapkan. Kadar yang sesuai dengan standart SNI hanya terdapat pada madu murni, yaitu madu yang belum diberi campuran dengan bahan-bahan lain (Suranto, 2004).

Madu kaya akan vitamin A, betakaroten, vitamin B kompleks, vitamin C, D, E, dan K (Susanto, 2007). Adapun penelitian yang dilakukan oleh Parwata dkk. (2010) mengenai aktivitas antiradikal bebas serta kadar beta karoten pada madu randu (*Ceiba pentandra*) dan madu kelengkeng (*Nephelium longata L.*) didapatkan aktivitas antiradikal bebas pada madu kelengkeng lebih besar yaitu 82,10% dibandingkan dengan madu randu yaitu 69,37%. Vitamin C termasuk zat yang memiliki aktivitas antiradikal. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dipandang perlu dilakukan penelitian penetapan kadar vitamin C dalam madu randu dan kelengkeng dari peternak lebah dan madu perdagangan di Kota Semarang menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Pada penelitian ini kadar vitamin C dari kedua jenis madu tersebut juga dibandingkan.

METODOLOGI

Bahan

Tiga sampel madu randu dan madu kelengkeng dari peternak lebah yang berbeda (Ambarawa, Ngaliyan, Gringsing), Tiga produk madu randu dan madu kelengkeng perdagangan di Kota Semarang dengan merek yang berbeda, Baku pembanding vitamin C (Brataco), Asetonitril (J.T.Baker), Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) (E-Merck), Asam fosfat (H_3PO_4) (E-Merck), Aquabidest (Ikafarma).

Alat

Satu unit alat KCKT (Waters ec 2695), yang terdiri dari injektor (waters SM7), vakum desaggar pompa CBM, detector UV (UV/Vis Water 2489) dilengkapi dengan kolom (sunfire C_{18} 5 μm ; 4,6x150 mm), Membran filter PTFE 0,45 μm , Labu ukur 500,0 mL, 50,0 mL, 25,0 mL, 10,0 mL, Pipet mikro ukuran 50 – 1000 μL (Accumax), Ultrasonik (Branson 5510), Pengukur pH (Schott pH 3,6), Timbangan (Metler Toledo).

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Dapar Fosfat pH 3,6
Ditimbang saksama 1700,0 mg Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), lalu dimasukkan ke dalam labu takar 500,0 mL dan dilarutkan dengan aquabidest sampai tanda batas. Penepatan pH 3,6 diatur dengan menambahkan Asam fosfat (H_3PO_4).
2. Optimasi
 - a. Optimasi komposisi fase gerak terdiri dari aquabidest; campuran asetonitril dan aquabidest; campuran dapar fosfat pH 3,6 dan asetonitril. Selanjutnya dipilih fase gerak yang hasilnya optimum.
 - b. Penentuan panjang gelombang antara 254 nm, 260 nm, 265 nm, 270 nm. Selanjutnya dipilih panjang gelombang yang hasilnya optimum.
 - c. Penentuan waktu alir antara 0,5 mL/menit, 0,6 mL/menit, 1 mL/menit. Dipilih waktu alir yang hasilnya optimum.
 - d. Fase gerak yang digunakan adalah campuran dapar fosfat pH 3,6 dan asetonitril derajat KCKT hasil optimasi pada butir a dengan perbandingan 75 : 25, v/v; 70 : 30, v/v; 80 : 20, v/v dan 85 : 15, v/v. Selanjutnya dipilih perbandingan yang hasilnya optimum.
3. Pembuatan Fase Gerak
Fase gerak yang digunakan adalah campuran dapar fosfat pH 3,6 dan asetonitril dengan perbandingan 70 : 30, v/v.
4. Pembuatan Larutan Stok Baku Vitamin C
Ditimbang seksama 250,0 mg vitamin C baku, lalu dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 mL dan dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
5. Validasi Prosedur Analisis
 - a. Ketelitian (Presisi)
Zat baku pembanding vitamin C dalam konsentrasi 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diinjeksikan sebanyak 20 μL ke alat KCKT. Luas area, waktu retensi dan tinggi puncak vitamin C dicatat. Percobaan direplikasi sebanyak 6 kali. Ketelitian digunakan untuk menghitung nilai SD dan RSD.
 - b. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi
Persamaan untuk nilai Y pada batas deteksi adalah $Y = Y_B + 3 S_B$. Nilai a, yaitu titik potong kurva dengan sumbu y dipakai sebagai taksiran Y_B (respon blanko). Batas kuantifikasi ditentukan dari hitungan nilai Y dengan persamaan $Y = Y_B + 10 S_B$.
 - c. Linieritas
Larutan stok baku vitamin C dengan konsentrasi vitamin C 50, 100, 150, 200, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diinjeksikan ke dalam KCKT. lalu dihitung persamaan kurva baku.

6. Uji Kualitatif Vitamin C
Uji kualitatif untuk komponen vitamin C dalam sampel dilakukan dengan mencocokkan waktu retensi dari masing-masing puncak pada kromatogram sampel dengan waktu retensi senyawa standar.
7. Penetapan Kadar Vitamin C dalam Madu Sampel madu yaitu madu kelengkeng dan

madu randu masing-masing dipipet sebanyak 2,0 mL. Sampel diencerkan sampai volumenya 25,0 mL. Sampel diultrasonikasi selama 10 menit. Sampel disaring kemudian diambil 20 μ L, lalu disuntikkan ke alat KCKT.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Pengambilan Sampel Madu

Sampel berupa tiga madu randu dan tiga madu kelengkeng yang berasal dari peternak lebah yang berbeda (Ambarawa, Ngaliyan, Gringsing) dan tiga produk madu randu dan madu kelengkeng perdagangan di Kota Semarang dengan merek yang berbeda.

B. Optimasi Kondisi KCKT

Hasil penelitian memperoleh kondisi optimum pada komposisi fase gerak berupa campuran dapar fosfat pH 3,6 dan asetonitril dengan perbandingan 70 : 30, v/v, laju alir 0,5 ml/menit dan panjang gelombang yang dipilih adalah 260 nm.

C. Validasi Metode Analisis

1. Ketelitian

Hasil penetapan kadar vitamin C perlu dilihat ketelitiannya yaitu dengan cara menghitung standart deviasi (SD). Suatu metode dikatakan mempunyai presisi yang

baik jika nilai koefisien variasinya lebih kecil dari 5% (Lister, 2005). Hasil uji ketelitian dapat dilihat pada Tabel I.

2. Kepekaan (sensitivitas)

Pada penelitian ini didapat nilai limit deteksi (LOD) sebesar 1,50 μ g/mL. Nilai LOD ini diperoleh dari perhitungan persamaan kurva baku dan luas area (Y), dimana nilai Y adalah hasil dari penjumlahan $Y_B + 3S_B$. Nilai limit kuantitasi (LOQ) sebesar 5,01 μ g/mL. Nilai ini diperoleh dari penjumlahan $Y_B + 10S_B$.

3. Linieritas

Uji linieritas vitamin C dilakukan dengan seri konsentrasi vitamin C 50, 100, 150, 200, 250 μ g/mL. Hasil perhitungan kurva baku memperoleh hubungan antara konsentrasi vitamin C terhadap luas area. Kurva baku menghasilkan persamaan regresi linier: $Y = 76369x + 486924$, dengan koefisien korelasi $r = 0,9986$. Nilai r ini lebih besar dari r teoritis sehingga dapat dikatakan bahwa metode analisis yang digunakan linier.

Tabel I. Hasil uji ketelitian zat baku pembanding

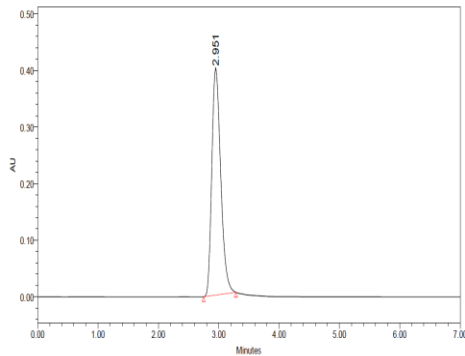
No	t_R (menit)	Area	% Area	Tinggi
1	2,950	12499546	100	1240426
2	2,949	12499612	100	1238804
3	2,946	12506462	100	1233110
4	2,948	12514791	100	1241114
5	2,947	12504579	100	1240743
6	2,949	12511384	100	1241256
Mean			2,948	
SD			0,001	
% RSD			0,05	

D. Identifikasi Vitamin C dalam Sampel

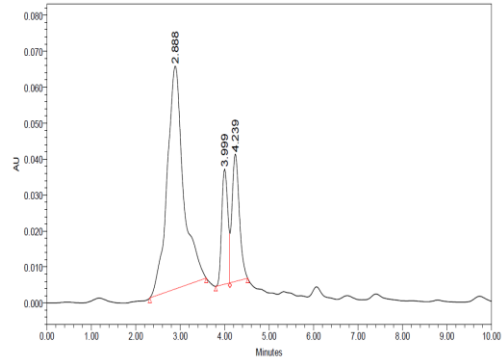
Identifikasi adanya kandungan vitamin C dalam madu dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi (t_R) sampel yang diduga mengandung vitamin C dengan waktu retensi (t_R) baku pembanding vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel mengandung vitamin C. Hal ini dapat dilihat dari

waktu retensi (t_R) sampel sama dengan waktu retensi (t_R) larutan baku vitamin C.

Hampir semua sampel mengandung vitamin C karena waktu retensi baku pembanding vitamin C berkisar antara 2,950-2,954 menit yang mendekati atau sama dengan waktu retensi semua sampel yaitu 2,888-2,966 menit. Hasil identifikasi vitamin C dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel II,



(a) Standar vitamin 50 µg/mL



(b) Madu kelengkeng ternak 1 replikasi 1

Gambar 1. Kromatogram vitamin C baku pembandingan dan vitamin C sampel

Tabel II. Hasil identifikasi zat baku pembandingan

Sampel	t_R baku vitamin (min)	t_R sampel (min)		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Randu ternak 1		2,905	2,909	2,907
Randu ternak 2		2,897	2,898	2,895
Randu ternak 3		2,915	2,917	2,913
Randu produk 1		2,927	2,931	2,927
Randu produk 2	2,950 – 2,954	2,909	2,910	2,910
Randu produk 3		2,903	2,903	2,905
Kelengkeng ternak 1		2,888	2,887	2,889
Kelengkeng ternak 2		2,963	2,965	2,966
Kelengkeng ternak 3		2,913	2,911	2,913
Kelengkeng produk 1		2,937	2,943	2,943
Kelengkeng produk 2		2,949	2,946	2,948
Kelengkeng produk 3		2,925	2,929	2,929

E. Perhitungan Kadar Rata-Rata Vitamin C dalam Sampel

Kadar vitamin C dalam sampel dihitung dengan memplot-kan hasil kromatogram ke dalam kurva baku yang telah diperoleh yaitu $Y = 76369x + 486924$, sehingga diperoleh kadar vitamin C dalam sampel. Hasil rata-rata kadar vitamin C dalam sampel madu dapat dilihat pada Tabel III berikut ini:

pada madu kelengkeng dari peternak lebah lebih kecil daripada madu kelengkeng perdagangan di Kota Semarang. Besarnya kadar rata-rata vitamin C pada madu randu dari peternak lebah dan madu randu

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa dari duabelas sampel madu ada dua madu yang tidak mengandung vitamin C. Kadar rata-rata vitamin C pada madu randu dari peternak lebah lebih besar daripada madu randu perdagangan di Kota Semarang. Sedangkan kadar rata-rata vitamin C perdagangan di Kota Semarang masing-masing adalah 0,034% dan 0,016%, sedangkan untuk madu kelengkeng masing-masing adalah 0,027% dan 0,032%.

Tabel III. Kadar rata-rata vitamin C

Sampel	Kadar rata-rata sampel (%)
Randu ternak 1	0,04924
Randu ternak 2	0,05201
Randu ternak 3	0,00001
Randu produk 1	0,00038
Randu produk 2	0,04698
Randu produk 3	0,00000
Kelengkeng ternak 1	0,01785
Kelengkeng ternak 2	0,05552
Kelengkeng ternak 3	0,00693
Kelengkeng produk 1	0,05497
Kelengkeng produk 2	0,04075
Kelengkeng produk 3	0,00000

F. Perbandingan Kadar Vitamin C dalam Madu Randu dan Madu Kelengkeng Dari Peternak Lebah dan Madu Perdagangan di Kota Semarang

Dalam penelitian ini data yang didapat diuji secara statistik yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel IV

Tabel IV. Data perbandingan kadar vitamin C

Madu randu peternak dan madu randu produk	Madu kelengkeng peternak dan madu kelengkeng produk	Madu randu peternak dan madu kelengkeng peternak	Madu randu produk dan madu kelengkeng produk
Homogen tetapi tidak normal	Homogen dan normal	Homogen dan normal	Homogen tetapi tidak normal
Kruskal-wallis	Anova	Anova	Kruskal-Wallis
Nilai signifikansi 0,960 atau > 0,05	Nilai signifikansi 1,000 atau > 0,05	Nilai signifikansi 0,903 atau > 0,05	Nilai signifikansi 1,000 atau > 0,05
Berbeda tidak signifikan	Berbeda tidak signifikan	Berbeda tidak signifikan	Berbeda tidak signifikan

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- a. Dari duabelas sampel madu randu dan madu kelengkeng yang berasal dari peternak lebah dan madu perdagangan di Kota Semarang terdapat sepuluh madu yang mengandung vitamin C, sedangkan ada dua madu yang tidak mengandung vitamin C.
- b. Kadar rata-rata vitamin C dalam madu randu dari peternak lebah dan madu randu perdagangan di Kota Semarang masing-masing adalah 0,034% dan 0,016%, sedangkan untuk madu kelengkeng masing-masing adalah 0,027% dan 0,032%.
- c. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar vitamin C madu randu dan madu kelengkeng yang berasal dari peternak lebah dan madu perdagangan di Kota Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2004, *Madu*, Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Lister, A.S., 2005, Validation of HPLC Methods in Pharmaceutical Analysis, in *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, Edited by Ahuja, S. and Dong, M. W., Worldwide Researc and Development, Purdue Pharma, New York, 191-217.
- Parwata, Ratnayani, dan Listya R., 2010, *Aktivitas Antiradikal Bebas serta Kadar Beta Karoten pada Madu Randu (Ceiba pentandra) dan Madu Kelengkeng (Nephelium longata L.)*, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, 56-62.

Purbaya, J.R., 2002, *Mengenal dan Memanfaatkan Khasiat Madu Alami*, Pionir Jaya, Bandung, 23.

Suranto, A., 2004, *Khasiat & Manfaat Madu Herbal*, PT Agromedia Pustaka, Depok, 2, 16, 31, 39-48.

Susanto, A., 2007, *Terapi Madu*, Penebar Swadaya, Jakarta, 30-35.

Wirakusumah, E., 2010, *Sehat Cara Al-Qur'an dan Hadist*, Mizan Publika, Jakarta Selatan, 86.