

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Madu Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*)**

Madu didefinisikan secara umum sebagai zat cair yang tampak kental yang diproduksi oleh lebah melalui proses fermentasi cairan kental yang dihasilkan oleh nektar atau bagian non-bunga. Nektar adalah zat yang sangat kompleks yang diproduksi oleh kelenjar nektar dalam bentuk larutan gula dengan berbagai konsentrasi mulai dari 5 hingga 70%, dan konsentrasi ini dipengaruhi oleh kelembaban tanah, udara dan jenis tanaman. Madu merupakan cairan alami yang pada umumnya memiliki aroma manis yang dihasilkan dari lebah dari pemecahan nektar atau bagian lain darinya, atau dari ekskresi serangga yang berkhasiat dan bergizi (Gunawan, 2018).

Madu terdiri dari beberapa senyawa seperti gula atau glukosa dan fruktosa serta sejumlah mineral seperti kalium, magnesium, kalsium, belerang, klor fosfat dan besi. Selain itu, madu juga memiliki kandungan vitamin B1, B2, B3 dan B6 serta Vitamin C yang memiliki komposisi yang berubah ubah sesuai dengan kualitas dari serbuk sari dan nektar. Dikatakan pula bahwa madu juga mengandung sebagian kecil yodium, seng dan beberapa jenis hormone. Aroma khusus dari madu yang dihasilkan memiliki aroma yang tercampur antara rasa asam seperti lemon dan gula. Aroma tersebut berasal dari lebah yang menghinggapi resin tumbuhan dan bunga (Fatoni, 2008).

Madu memiliki warna yang berbagai variasi dapat berkisar dari transparan ke buram, Madu memiliki warna dasar kuning kecoklatan yang mirip seperti gula caramel. Warna dari madu dipengaruhi oleh sumber nektar, usia dari madu, dan penyimpanannya. Semuanya berkontribusi pada warna madu. Madu yang diperoleh melalui pengambilan sampel nektar cepat

lebih memiliki warna lebih terang daripada yang diperoleh dari prosedur yang panjang. Selain itu, kualitas sarang merupakan faktor utama dalam kualitas madu. Partikel-partikel yang tersebar menjadi madu, seperti ada atau kurangnya serbuk sari, juga dapat digunakan untuk mengevaluasi apakah madu jernih. Dalam madu kristal, putihnya kristal glukosa dapat menyebabkan perubahan warna menjadi lebih terang. Kandungan flavonoid dan fenolik yang tinggi dari madu kelulut berkontribusi terhadap aksi antioksidannya, yang memungkinkannya membatasi oksidasi dengan menurunkan pembentukan radikal bebas. (Al-Hatamleh *et al.*, 2020).

Salah satu hasil hutan bukan kayu yang sering ditemukan di Kalimantan Selatan dan banyak diminati oleh masyarakat setempat adalah madu kelulut. Menurut penelitian tertentu, madu lebah tanpa sengat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih banyak daripada madu dari spesies *Apis sp.* (Gela *et al.*, 2021).

Lebah kelulut merupakan salah satu species dalam kelas serangga (Insecta). Dibeberapa daerah madu kelulut memiliki nama yang berbeda-beda misalnya: Gegelah (Lampung), Teuweul (sunda), Kelulut (melayu), Lanceng (jawa), Kelulut (melayu), Galogalo (sumatera barat), dan lain sebagainya. Terdapat pula puluhan jenis madu kelulut yang tersebar di Indonesia seperti kepulauan Kalimantan, Sumatra, Jawa, Bali, Sulawesi, dan sekitarnya. Sistematika lebah madu kelulut atau madu tanpa sengat yaitu:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Arthropoda</i>
Class	: <i>Insecta</i>
Ordo	: <i>Hymenoptera</i>
Familia	: <i>Apidae</i>
Sub Familia	: <i>Heterotrigona</i>
Spesies	: <i>Heterotrigona itama</i>



*Gambar 2. 1 Madu Lebah Kelulut*

Secara umum lebah kelulut memiliki warna hitam dan berukuran kecil, dan memiliki panjang tubuh 3 sampai 8 mm, serta memiliki sayap yang lebih panjang dari tubuhnya. Madu Kelulut mempunyai 3 pasang kaki yang beruas-ruas. Sepasang kaki belakang memiliki duri-duri yang sangat banyak hingga dapat memegang polen yang diambil dari bunga tanaman. Di bagian kepala dari lebah kelulut terdapat satu pasang mata yang sangat besar, mirip dengan mata belalang, satu pasang antena serta mulut yang berbentuk moncong panjang sehingga mudah untuk mengisap madu.

#### a. Kandungan Madu

Madu merupakan salah satu bahan alam yang kaya akan manfaat. Madu adalah cairan kental yang rasanya manis yang dihasilkan dari nektar yang berbeda dan dihasilkan oleh lebah. Madu dipercaya memiliki manfaat yang banyak pada lingkup kedokteran contohnya sebagai efek anti inflamasi, antiseptik yang dapat digunakan sebagai *covering agent* dan juga efek antimikroba yang dapat menyembuhkan luka. Selain itu, madu juga dikenal sebagai bahan alami yang digunakan sebagai pelembab dikarenakan sifat madu yang emolien, humektan dan antioksidan. Sifat madu yang higroskopis atau dapat menyerap air dengan mudah dari udara sekitar

akibatnya madu bisa digunakan untuk humektan dan dapat membantu mempertahankan kulit hidrasi dan juga dapat memelihara jaringan epitel internal dan dapat memperlancar sirkulasi udara pada kulit kering (Sinulingga *et al.*, 2018).

Ada sejumlah nutrisi dalam madu murni, termasuk karbohidrat, protein, asam amino, vitamin, dan mineral. Flavonoid dan vitamin B1, B2, B3, B6, dan C ditemukan dalam madu. Mineral seperti Na, Ca, K, Mg, Cl, Fe, dan Zn juga ditemukan dalam madu. Vitamin C, B3, asam organik, enzim, asam fenolik, flavonoid, vitamin A, dan vitamin E adalah nutrisi yang berfungsi antioksidan dalam madu. Madu juga mengandung banyak nutrisi yang berfungsi antioksidan (Bogdonov, *et al.*, 2018).

b. Manfaat Madu Lebah Kelulut

Di masa lalu, orang menggunakan bahan-bahan herbal untuk mengobati penyakit melalui eksperimen. Sejak zaman kuno, madu lebah kelulut telah dimanfaatkan dan dikonsumsi baik sebagai sumber makanan maupun untuk sifat terapeutiknya dalam pengobatan sejumlah penyakit. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa madu kelapa biasanya dapat digunakan untuk mengobati luka karena peran nutrisinya dalam mempromosikan penyembuhan luka serta sifat anti-inflamasi, antibakteri, dan debridement luka. (Weliyani, *et al.*, 2015).

Dalam penelitian sebelumnya, madu lebah secara tradisional digunakan untuk menyembuhkan batuk, pilek, dan penyembuhan luka cepat selain anti-penuaan. Selain itu, madu dikatakan menawarkan berbagai manfaat farmakologis, termasuk sifat anti-diabetes, antioksidan, dan antibakteri. (Yazan *et al.*, 2018).

## 2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Proses alami tubuh tergantung pada molekul-molekul perantara ini. Radikal bebas mudah bereaksi dengan senyawa lain karena mereka sangat tidak stabil. Molekul ini menggunakan elektron dari molekul lain untuk menstabilkan dirinya. Akan ada reaksi berantai yang membahayakan sel jika tidak terkandung. (Kristiani *et al.*, 2019). Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh atau endogen adalah radikal yang diproduksi sebagai hasil dari konsumsi protein, karbohidrat, dan lemak, serta sisa proses metabolisme tubuh (pembakaran). Radikal bebas eksogen berasal dari makanan, bahan kimia, polusi udara, knalpot kendaraan, asap knalpot kendaraan, sinar matahari, dan sinar UV. (Droge, 2002); (Richa, 2009).

Karena elektronnya yang tidak berpasangan, radikal bebas dapat membahayakan DNA, lipid, protein, dan struktur membran sel. Sistem pertahanan yang menurun dan kondisi degeneratif seperti keriput, kanker kulit, dan penuaan dini dapat diakibatkan oleh jumlah radikal bebas yang terus meningkat (Lawrence & Rees, 2012). Radikal bebas juga dapat dianggap sebagai penyebab penuaan dini kulit karena serangan mereka pada jaringan dapat menyebabkan degradasi asam lemak dan hilangnya elastisitas, yang menyebabkan kulit kering dan keriput. (Mulyawan & Suriana, 2013). Virus dan bakteri intraseluler sebagian besar dibunuh oleh radikal bebas. Namun, jika radikal bebas yang berlebihan berpotensi mengganggu sel karena mengambil elektron dari atom komponen struktural dan fungsional sel (enzim dan DNA) (Arivazhagan *et al.*, 2000).

Metabolisme xenobiotik atau metabolisme sel aerobik biasanya menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas yang dikenal sebagai *spesies oksigen reaktif* (ROS) terlibat dalam sejumlah proses fisiologis spesifik organ. Karena dimulainya reaksi berantai

di membran, diikuti oleh reaksi propagasi, pembentukan ROS dapat menyebabkan kerusakan sel dan peroksidasi lipid sitotoksik (Sikka, 2004). Radikal oksigen, juga dikenal sebagai *spesies oksigen reaktif* (ROS), dan spesies nitrogen (RNS), seperti oksida nitrat ( $\text{NO}\cdot$ ) dan nitrogen dioksida ( $\text{NO}_2$ ), yang dihasilkan oleh oksidasi radikal molekuler organik, adalah radikal bebas terpenting tubuh. Radikal yang mengandung hidrogen, seperti radikal DPPH, dihasilkan oleh serangan atom H ( $\text{H}\cdot$ ) (Alisi & Onyeze, 2008).

## **B. Antioksidan**

Antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk mencegah kerusakan radikal bebas pada sel, protein, dan lemak normal serta menetralkan radikal bebas. Antioksidan tidak berubah menjadi radikal bebas dan tetap stabil ketika mereka menerima atau menyumbangkan elektron untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan memberikan radikal bebas satu atau lebih elektron untuk menghentikan reaksi berantai dan pembentukan radikal bebas baru. Antioksidan juga dapat mengikat, menghentikan reaksi berantai radikal bebas, dan menyediakan elektron. (Halliwell, 2012). Untuk menghentikan atau melawan radikal bebas, tubuh manusia memiliki sistem antioksidan yang mencakup enzim seperti glutathion peroksidase, katalase, dan protein superoksida dismutase. Ketika antioksidan alami tubuh kewalahan oleh jumlah molekul radikal bebas, radikal bebas akan menghancurkan komponen lipid, protein, dan DNA. Oleh karena itu, antioksidan diperlukan untuk pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Antioksidan termasuk enzim, vitamin (seperti vitamin E, vitamin C, dan vitamin A), dan zat non-enzim (termasuk flavonoid, albumin, bilirubin, dan ceruloplasmin). (Ulfah, 2015).

## **C. Metode DPPH**

Metode DPPH adalah suatu metode yang sederhana dan hanya membutuhkan Spektrofotometer UV-Vis, yang merupakan prosedur langsung. Intensitas penyerapan menurun ketika hidrogen atau elektron donor (antioksidan penangkap radikal) hadir, dan warna

larutan radikal menurun sebanding dengan jumlah elektron yang ditangkap. Disarankan agar metode DPPH digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu ekstrak karena sederhana dan akurat. Karena stabilitasnya yang tinggi, bahan uji yang kecil, dan kemampuan untuk bekerja dengan senyawa hidrofilik dan lipofilik, radikal DPPH sekarang banyak digunakan. Reagen non-selektif adalah manfaat dari metode penangkapan radikal DPPH, memungkinkan identifikasi senyawa dengan kelompok fungsional antioksidan lemah dan waktu stabil yang cukup setelah reaksi untuk analisis. Antioksidan hidrofilik dan lipofilik dapat di uji aktivitasnya menggunakan metode DPPH, yang dapat digunakan dalam larutan organik berair dan nonpolar (Irianti & Puspitasari, 2016).

Penyerapan terbesar radikal bebas DPPH adalah pada 517 nm dan mereka memiliki warna ungu. Elektron tidak berpasangan. Elektron telah digabungkan ketika warna berubah menjadi kuning. Hal ini menunjukkan potensi antioksidan yang lebih besar untuk mengikat radikal bebas karena jumlah elektron DPPH yang meraih atom hidrogen terhubung dengan pengurangan intensitas warna (Ulfah, 2016). Konsep uji DPPH mengukur kapasitas antioksidan yang secara langsung mencapai radikal DPPH dengan memanfaatkan penghilangan warna untuk menentukan absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Radikal bebas stabil yang dikenal sebagai radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat memiliki warna ungu gelap dan warna kuning ketika antioksidan mengubahnya menjadi bentuk non radical (Putri, 2014).

#### **D. SelfNano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)**

Karena kenyataan bahwa ia memiliki berbagai aplikasi dan ekonomi masa depan yang menjanjikan, nanoteknologi baru-baru ini menarik minat banyak ilmuwan dan peneliti. Tujuan utama dari desain nanopartikel adalah berfungsi sebagai sistem pengiriman untuk mengatur pelepasan zat aktif farmakologis dengan mengendalikan ukuran partikel, karakteristik permukaan, dan tegangan permukaan

(Anindhita & Oktaviani, 2016). Emulsi transparan dan stabil secara termodinamika dengan kisaran ukuran partikel 5 hingga 200 nm disebut nanoemulsi. (Sokolov, 2014).

Perangkat pengiriman obat yang dikenal sebagai perangkat Self-Nanoemulsifying Drug Delivery (SNEDDS) menciptakan nanoemulsi. Nanoemulsi minyak / air (M / A) dibuat ketika air dicampur dengan minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan zat aktif untuk menghasilkan SNEDDS (Sokolov, 2014). Formulasi SNEDDS seringkali lebih kuat secara fisik dan kimia dalam penyimpanan jangka panjang dibandingkan dengan sistem nanoemulsi lainnya (Date et al., 2010). Surfaktan, kosurfaktan, dan fase mimik semuanya berdampak pada konstituen utama SNEDDS (Huda et al., 2016). Ukuran tetesan dan stabilitas nanoemulsi akan dipengaruhi oleh fase minyak. Komposisi surfaktan dan cosurfactant akan berpengaruh pada ukuran minyak dalam media dispersi. Ukuran tetesan emulsi ditentukan oleh minyak, yang juga bertindak sebagai pembawa utama bahan aktif. Kosurfaktan dan surfaktan ini memainkan peran penting dalam stabilitas persiapan, yang dapat berdampak pada kelarutan obat, penyerapan keseragaman, dan ukuran partikel (Anindhita & Oktaviani, 2016). Kosurfaktan dapat meningkatkan kelarutan bahan aktif dan meningkatkan penyerapannya selain bekerja dengan surfaktan untuk mengurangi tegangan permukaan minyak dan air (Huda et al., 2016). Ukuran tetesan emulsi yang dihasilkan juga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi kosurfaktan, surfaktan, dan minyak. Ketika minyak teremulsi dalam air, jumlah surfaktan dan kosurfaktan harus lebih besar dari jumlah minyak agar minyak dapat dilapisi dan menghasilkan ukuran tetesan dalam kisaran skala nano (Anindhita & Oktaviani, 2016).

#### **E. Particle Size Analyzer (PSA)**

Peralatan yang disebut penganalisis ukuran partikel (PSA) digunakan untuk mengetahui bagaimana ukuran partikel sampel didistribusikan. Aerosol, suspensi, emulsi, dan padatan semuanya

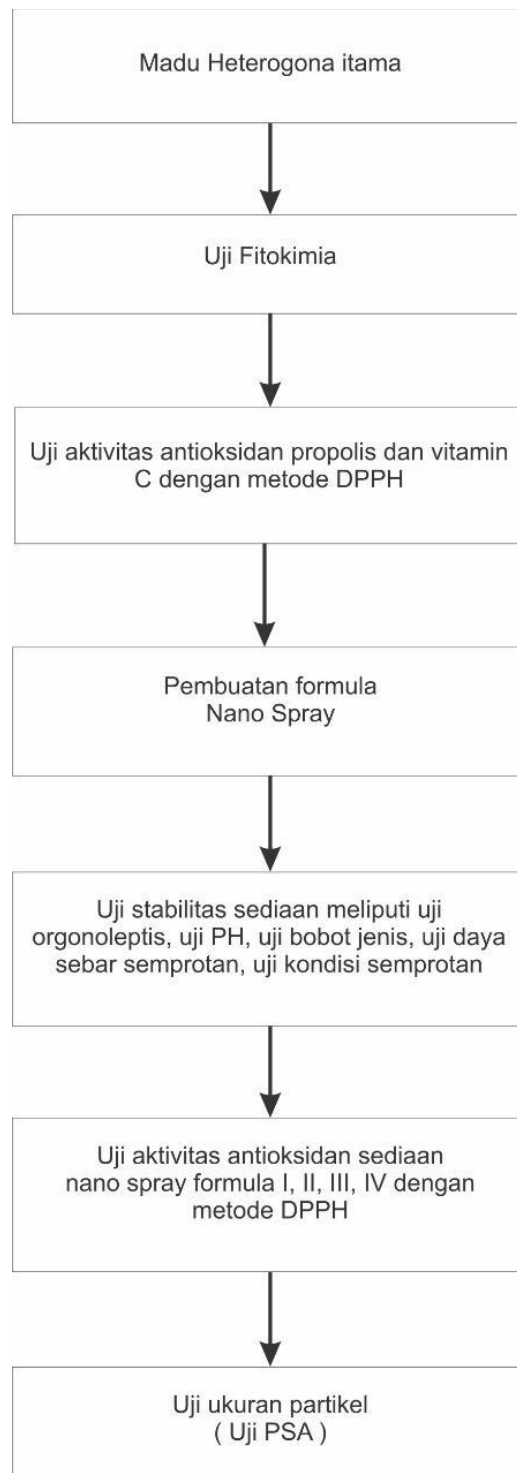


dapat mencakup PSA. Ada sejumlah pendekatan untuk menganalisis partikel di berbagai bidang, serta sejumlah pendekatan yang digunakan untuk aplikasi tertentu. Penggunaan khusus untuk memperkirakan ukuran partikel melingkar adalah pesan layanan publik. Selain itu, PSA dapat digunakan untuk mengukur volume setiap partikel di dalam sampel, terutama untuk yang berukuran antara 0,5  $\mu$ m dan 100  $\mu$ m. (Ningsih, et al., 2013).

PSA didasarkan pada hamburan cahaya dinamis (DLS), dan dapat digunakan untuk mengukur ukuran molekul dan partikel yang terlarut atau tersebar dalam larutan. Ketika sebuah partikel melewati sinar laser dan cahaya yang dihamburkannya dikumpulkan di luar rentang sudut yang berlawanan langsung, fenomena ini dikenal sebagai difraksi laser. Komputer akan memeriksa distribusi intensitas yang hilang ini sebagai akibat dari distribusi ukuran partikel (Lusi, 2011).

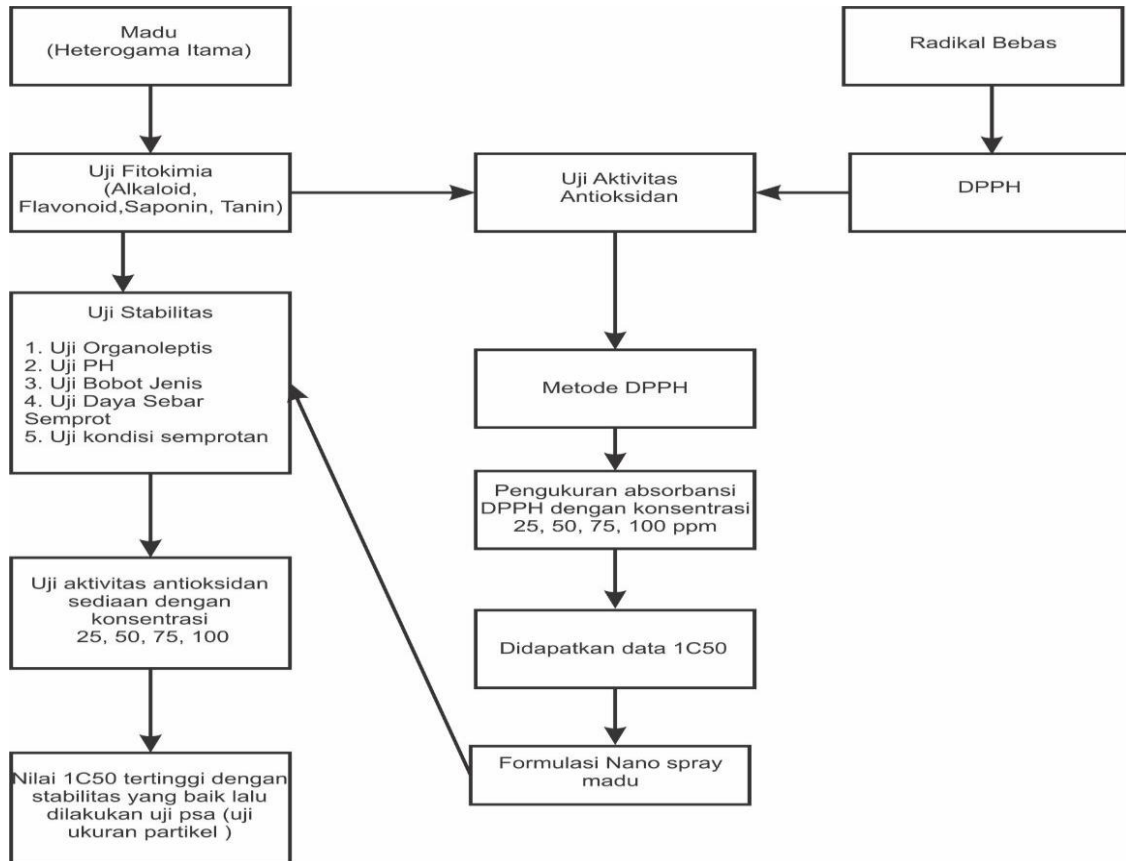
Metode basah biasanya digunakan untuk pengukuran partikel dengan PSA. Untuk sampel dengan aglomerasi tinggi dalam urutan nanometer, metode ini dianggap lebih akurat daripada metode kering, pengukuran partikel menggunakan metode saringan, atau analisis gambar. Hal ini dengan alasan partikel-partikel tersebut tersebar ke dalam medium sehingga partikel-partikel tersebut tidak saling menggumpal. Akibatnya, ukuran partikel yang diukur adalah partikel tunggal. Selain itu, hasil pengukuran disajikan dalam bentuk distribusi, menyiratkan bahwa mereka mewakili kondisi keseluruhan sampel. Diharapkan nanopartikel yang dihasilkan akan memiliki distribusi ukuran dalam rentang nanometer dan keseragaman ukuran melalui analisis PSA (Rusli, 2011).

## F. Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2. 2 Kerangka Teori Penelitian

## G. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2. 3 Kerangka Konsep Penelitian

## H. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sediaan nanospray Madu Kelulut *Heterotrigna itama* memiliki aktivitas antioksidan.