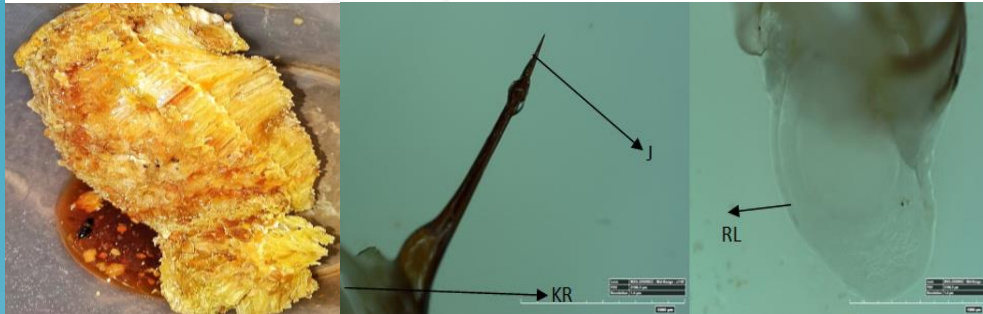
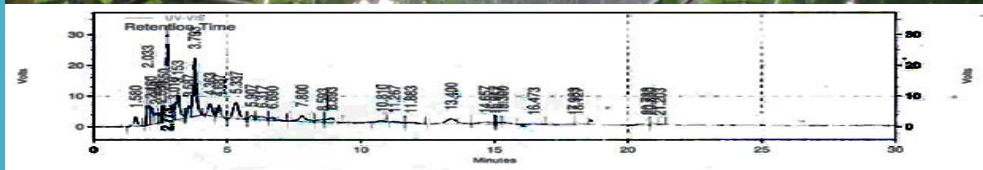


Potensi Bioaktif dari *Apis dorsata* Binghami, Lebah Madu endemik Sulawesi



Mokosuli Yermia Semuel
Eva S. N. Kaunang
Jacklin S. S. Manoppo
2019

PENULIS



Penulis menyelesaikan Pendidikan S-1 di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Manado (UNIMA) Program studi Biologi dan sebagai lulusan pertama program non kependidikan Unima pada tahun 2003, lulus dengan predikat *cum laude*. Sejak masih mahasiswa telah menjadi asisten dosen kemudian setelah menyelesaikan pendidikan S-1 menjadi asisten dosen di Jurusan Biologi selama 2 tahun, pada tahun 2005 lulus dalam pengangkatan dosen pegawai negeri sipil dalam lingkungan Universitas Negeri Manado.

Pada tahun 2006 mendapatkan kesempatan tugas belajar BPPS DIKTI di Institut Pertanian Bogor (IPB) dan memilih Program Studi Magister Biokimia. Pada bulan Maret 2008 oleh kemurahan Tuhan berhasil menyelesaikan studi sebagai lulusan pertama dari angkatannya dengan predikat *cum laude*. Tahun 2013 penulis menyelesaikan Pendidikan Doktor (S3), lulus dengan predikat *Cum Laude*, dengan Disertasi berjudul : Karakterisasi dan Bioaktivitas Farmakologis Racun Lebah Madu *Apis nigrocinta* Smith dan *Apis dorsata* Bighami Endemik Sulawesi. Penulis melanjutkan program S3 dengan Biaya BPPS Dikti pada program Doktor Entomologi Bidang Minat Entomologi Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi Manado. Penulis pernah bekerja sebagai pengajar biologi kelas III di SMA Kristen Binaan khusus Tomohon dan SMA Kristen Eben Haezer Manado Kelas RSBI serta sebagai Pelatih Olimpiade Biologi sejak tahun 2005 sampai saat ini. Mata kuliah yang diampuh di Institusi tempat mengabdikan antara lain Entomologi Forensik, Biokimia, Biologi Sel, Biologi Molekuler, Genetika, Mikrobiologi dan Fisiologi Tumbuhan.

Beberapa karya tulis yang telah diselesaikan antara lain : Penuntun praktikum mikrobiologi, Buku Ajar Mikrobiologi Dasar, Penuntun praktikum biokimia dasar, Modul Evolusi, Buku Ajar Genetika, Buku Ajar Biologi Molekuler dan Buku Ajar Biologi Umum : Prinsip dan Konsep. Disamping mengajar di Jurusan Biologi FMIPA UNIMA, Program Studi Farmasi FMIPA UNIMA juga dipercaya mengajar mata kuliah Analisis Fitokimia pada Jurusan farmasi FMIPA UKIT Az. Wenas Tomohon dan Program Pascasarjana UNSRAT mengampu mata kuliah Venom dan Toksin Serangga. Penulis juga aktif dalam Penelitian dan Pengabdian Masyarakat yang dibiayai oleh Litabmas Dikti melalui skim : Hibah Bersaing, Hibah Fundamental dan Hibah Unggulan Perguruan Tinggi. Menjadi konsultan dalam penelitian Tesis dan Disertasi dalam bidang Biofarmaka, Biologi Molekuler khususnya barcode genetic menggunakan gen-gen pada DNA mitokondria dan ultrastruktur serangga.



DAFTAR ISI

Daftar Isi	<i>i</i>
Daftar Gambar	<i>ii</i>
Daftar Tabel	<i>iii</i>
Kata Pengantar	<i>iv</i>

Bab 1. Biologi Lebah Madu **1**

1.1. Evolusi dan adaptasi	2
2.2. Biologi Lebah madu	8
1.3. Morfologi dan Fisiologi	15
1.4. Lebah madu Sulawesi	18
1.5. Sumber Pakan dan Bentuk Persarangan	21
Referensi	27

Bab 2. Potensi Farmakologis Bioaktif dari Lebah Madu

2.1. Antimikroba	34
2.2. Kandungan bioaktif dan antioksidan	36
2.3. Efek antiinflamasi	38
2.4. Imunomodulasi dan antitumor	39
2.5. Hepatoprotektif dan antiradiasi	41
Referensi	43

Bab 3. Aktivitas antioksidan dan antikanker racun Apis dorsata Binghami

3.1. Potensi antikanker	51
3.2. Karakteristik Racun Apis dorsata Binghami	53
Referensi	61

Bab 4. Bioaktif dan aktivitas antioksidan sarang lebah Apis dorsata Binghami

4.1. Ekstraksi	67
4.2. Analisis fitokimia	69
4.3. Analisis kandungan flavonoid	72
4.4. Uji aktivitas antioksidan	74
Referensi	77

Bab 5. Aktivitas antihiperlipidemia ekstrak sarang Apis dorsata Binghami

5.1. Koleksi sarang lebah	85
5.2. Hewan uji	86

5.3. Metode **86**

5.4. Uji in vivo antihiperlipidemia **88**

Referensi **94**

Singkatan **98**

Daftar Tabel

Tabel 1	Karakteristik Racun lebah segar dan kering dari <i>Apis dorsata</i> Binghami	54
Tabel 2	Berat molekul (kDal) racun lebah madu <i>A. dorsata</i> dan <i>A. nigrocincta</i>	56
Tabel 3	Rendaman ekstrak sarang lebah <i>Apis dorsata</i> Binghami	68
Tabel 4	Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Sarang Lebah <i>Apis dorsata</i> Binghami	70
Tabel 5	Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah <i>Apis dorsata</i> Binghami	76
Tabel 6	Desain eksperimen uji antihiperlipidemia	87
Tabel 7	Rata-rata kadar lipid tikus putih setelah pemberian pakan hiperlipidemia.	90
Tabel 8	Rata-rata kadar Lipid tikus putih setelah pemberian ekstrak infusa sarang lebah <i>Apis dorsata</i> Binghami (mg/dl).	91

Daftar Gambar

- Gambar 1 Filogeni lebah madu (Engel dan Schultz, 1997). **9**
- Gambar 2 Tungkai (kaki) belakang lebah jantan *A. florea* (kiri) dan *A. andreniformis* (kanan). Perhatikan perbedaan panjang cuping (*lobe*). Digambar ulang dari Wu dan Kuang, 1987 **11**
- Gambar 3 Morfologi tungkai lebah. A. Morfologi tungkai depan B. morfologi tungkai belakang (Stone, 2005). **16**
- Gambar 4 Perbandingan lebah pekerja (kiri), lebah jantan fertil /drone (tengah) dan lebah ratu (kanan) dari *A. mellifera* (Stone, 2005). **17**
- Gambar 5 Tahapan perkembangan lebah madu (Hamdan, 2009). **18**
- Gambar 6 Lebah madu endemik Sulawesi *A. nigrocincta*. **19**
- Gambar 7 Pulau Sulawesi (daerah transisi) dikelilingi oleh banyak Pulau memiliki flora dan fauna yang berbeda dengan kawasan Indonesia bagian barat dan kawasan Indonesia bagian timur (Hadisoesilo, 1997 dan Baker, 1999). **20**
- Gambar 8 Bentuk persarangan *A. cerana* pada rongga/lubang pohon (A) dan bentuk persarangan terbuka *A. andreniformis* (B) (Sumber : Raffiudin, 2002). **23**
- Gambar 9 Sarang Lebah *A. dorsata* di Perkebunan (A). Paslaten, (B). Kaweruan, (C). Wasian dan (D). Dimembe Kab. Minahasa Utara siap di ambil madunya. **26**
- Gambar 10 Sarang lebah *A. dorsata* (Lokasi di Kombi Minahasa). **26**
- Gambar 11 Lokasi pengambilan sampel lebah *A. dorsata* Binghami. Bulatan merah menunjukkan lokasi. **27**
- Gambar 12 Sting dan racun lebah *A. dorsata* dari Minahasa (Sumber : foto hasil penelitian oleh penulis).

- 52**
- Gambar 13 Racun lebah *A. dorsata* diamati dengan mikroskop HiroxKH-8700. Ket : J= sting/jarum penusuk racun, KR (kantong racun/*venom sach*), RL = racun lebah. **55**
- Gambar 14 Kromatogram hasil SDS PAGE. Ditemukan 5 pita protein dengan berat molekul berturut-turut : 40 kDa, 25 kDa, 15 kDa, 10 kDa, 6,1 kDa dan 4,6 kDa. Standar Apitoksin (S), marker protein (M), racun *A. dorsata* (BV1), racun *A. nigrocincta* (BV2). **56**
- Gambar 15 Spektrograf *Crude venom* dari *Apis dorsata* Binghami. **57**
- Gambar 16 Aktivitas peredaman radikal bebas racun lebah *Apis dorsata* yang berasal dari 2 persarangan alami. **58**
- Gambar 17 Aktivitas peredaman radikal bebas racun lebah *Apis dorsata* yang berasal dari 2 persarangan alami. **58**
- Gambar 18 (a). Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dan (b). Ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami **68**.
- Gambar 19 Analisis Spektrofotometri UV Vis Ekstrak Etanol Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami. **70**
- Gambar 20 Analisis Spektrofotometri UV Vis Ekstrak n-heksan Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami. **70**
- Gambar 21 Retention time ekstrak sarang lebah A1. **72**
- Gambar 22 Hasil analisis Spektrofotometri UV Vis ekstrak A1 setelah dilakukan analisis dengan HPLC. **73**
- Gambar 23 Retention time sarang lebah A1 dan hasil analisis Spektrofotometer UV Vis. **74**
- Gambar 24 Retention time standar kuersetin dan hasil analisis Spektrofotometer UV Vis. **74**
- Gambar 25 Aktivitas inhibisi ekstrak pada berbagai konsentrasi uji terhadap radikal bebas DPPH. **75**
- Gambar 26 Gugus hidroksi pada flavonoid yang berpetan dalam peredaman radikal bebas. **77**
- Gambar 27 (a). Persarangan *Apis dorsata* Binghami di hutan Raringis, Minahasa, Sulawesi Utara, Indonesia (b). Sarang lebah yang digunakan

untuk ekstraksi. **86**

- Gambar 28 a. Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dari Minahasa b. Sarang lebah setelah dikeringkan dan dihaluskan c. Ekstrak infusa 10% d. Ekstrak infusa 5%. **89**
- Gambar 29 Diagram batang rangkuman rata-rata profil lipid tikus putih. **91**

Kata Pengantar

Apis dorsata Binghami adalah lebah madu endemic Sulawesi. Pertama kali dikoleksi oleh Alfred Russel Wallace pada abad ke 18 ketika ia berkunjung ke Sulawesi. *Apis dorsata* Binghami atau dikenal dengan “giant honey bee” memiliki keunikan dibandingkan *Apis mellifera* atau dikenal lebah madu barat dalam hal biosintesis sarang, madu dan racun. *Apis dorsata* Binghami memiliki variasi tumbuhan sumber pakan yang lebih besar dibandingkan *Apis mellifera*. *Apis dorsata* Binghami belum dapat ditangkarkan sehingga hidup secara alam di hutan.

Penulisan buku ini didasarkan pada hasil penelitian penulis mulai dari penelitian disertasi doctor (2013), penelitian hibah bersaing (2015-2016), penelitian dasar unggulan perguruan tinggi (2017-2019). Dalam buku ini dijelaskan hasil penelitian potensi farmakologis racun dan sarang lebah *Apis dorsata* terutama untuk penyakit degenerative yaitu kanker, hyperlipidemia, dan juga antibakteri. Harapan penulis buku ini dapat menjadi referensi bagi masyarakat awam maupun peneliti tentang *Apis dorsata* Binghami.

Penulis sangat berterima kasih kepada TUHAN yang memberikan hikmat. Kepada isteri Reinny S. Tuegeh, SSi, MSi yang memberikan dukungan dan kedua putera kami Mishael dan Miracle yang memberikan semangat untuk meneliti. Penulis juga sangat berterima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Manado, Ketua LPPM, teman-teman sejawat di Jurusan Biologi dan mahasiswa biologi yang telah membantu terselesaikan penulisan buku ini.

Akhirnya, semoga buku referensi ini bermanfaat dan mendapatkan masukan untuk perbaikan dimasa mendatang.

Penulis

Dr. Yermia S. Mocosuli, SSi, MSi

Bab 1.

Biologi Lebah Madu

Biologi Lebah Madu

1.1. Evolusi dan Adaptasi Lebah Madu

Lebah telah hidup sekitar 125 juta tahun dan evolusinya berhasil menempatkan lebah sebagai organisme yang sukses menempati hampir semua habitat di bumi. Walaupun demikian, sampai saat ini taksonomi lebah madu masih sangat membingungkan. Hal ini disebabkan oleh persebaran lebah madu (biogeografinya) yang sangat luas, dari daerah temperata sampai ke daerah tropis. Banyak spesies lebah madu terisolasi secara geografis antara lain dipengaruhi perilaku lebah madu sebagai serangga sosial.

Variasi kondisi geografis habitat lebah madu menyebabkan munculnya variasi morfologi, sehingga memunculkan sub spesies lebah madu pada beberapa daerah tertentu. Variasi morfologis yang muncul oleh beberapa ahli telah menjadi dasar cukup kuat untuk memisahkan sub spesies menjadi spesies baru. Variasi morfologis yang terbentuk akibat isolasi geografi, pada dasarnya disebabkan oleh perubahan genetik yang terjadi pada suatu sub spesies lebah yang ada pada daerah tertentu. Setiap spesies memiliki kecenderungan untuk beradaptasi dengan lingkungan dimana spesies itu hidup. Adaptasi morfologi merupakan bentuk adaptasi yang paling awal terjadi. Morfologi lebah adalah fenotip yang diekspresikan oleh gen-gen tertentu karena keseluruhan sifat-sifat suatu spesies termasuk karakter morfologi seperti panjang probosis, panjang sayap, lebar sayap, panjang femur, panjang tibia, dan karakter morfologis lainnya dikendalikan secara genetik.

Klasifikasi lebah madu sebenarnya telah direvisi oleh Maa pada tahun 1953, dimana dia membagi lebah madu menjadi tiga genera yaitu *Megapis*, *Micrapis*, dan *Apis* dengan 24 spesies. Klasifikasi ini hanya didasarkan pada karakter morfologis lebah pekerja dari beberapa spesimen yang dikoleksi pada berbagai museum tanpa kajian habitat dan biologi yang kuat. Koleksi lebah di museum dapat mengalami perubahan warna dan ukuran, jika telah

disimpan dalam waktu yang lama. Hal ini menyebabkan klasifikasi Maa, banyak diabaikan oleh para pakar lebah madu. Oleh karena itu para ahli lebah madu sampai pada tahun 1980-an lebih banyak yang menerima, lebah madu hanya satu genus yaitu *Apis* dengan empat spesies yaitu: *A. florea*, *A. dorsata*, *A. mellifera*, dan *A. cerana* (Ruttner, 1988; Hadisoesilo, 2001).

Perkembangan instrumentasi penelitian morfologi dan genetika molekuler, membuka dimensi baru penelitian klasifikasi lebah madu. Pada sekitar tahun 1990-an telah diketahui bahwa lebah madu yang terdapat di Asia Tenggara lebih banyak dibandingkan pengetahuan sebelumnya. Beberapa spesies yang sebenarnya dikemukakan oleh Maa terbukti secara genetik merupakan spesies sendiri. Spesies-spesies tersebut antara lain *A. dorsata*, *A. andreniformis*, *A. laboriosa*, *A. koschevnikovi*, *A. nuluensis*, dan *A. nigrocincta* (Hadisoesilo, 2001).

Pulau Sulawesi secara geologik sangat unik, karena merupakan pulau yang terbentuk bukan dari patahan benua Asia maupun Australia. Kondisi ini menyebabkan flora dan fauna yang ada di Sulawesi, memiliki karakteristik spesifik atau tingkat endeminitas tinggi, dibandingkan dengan flora dan fauna di daerah yang lain di Indonesia. Hal ini telah ditemukan oleh A. R. Wallace, pada abad 18 dalam ekspedisinya di Sulawesi. Ia membagi dua garis yang memisahkan flora dan fauna di Indonesia yaitu garis Wallace yang memisahkan pulau Sulawesi, dengan Indonesia bagian barat dan kemudian garis Weber yang memisahkan flora dan fauna Sulawesi dengan Indonesia bagian timur. Hasil penelitian Wallace turut mengkonstruksi teori evolusi Charles Darwin. Dengan demikian, terdapat banyak spesies hewan dan tumbuhan endemik yang hidup di pulau Sulawesi.

Sulawesi Utara memiliki spesies lebah endemik yaitu *A. nigrocincta* dan *A. dorsata* yang hidup secara alami di hutan. *A. nigrocincta* merupakan spesies simpatrik dengan *A. cerana* kedua spesies ini banyak ditemukan di Sulawesi Utara. *A. dorsata* merupakan lebah madu yang paling produktif menghasilkan madu, membuat sarang dengan hanya satu sisiran besar, yang menggantung di dahan dan ranting pohon, langit-langit terbuka dan tebing

jurang bebatuan. Oleh karena itu sampai sekarang para ilmuwan belum berhasil membudidayakan *A. dorsata* dalam bentuk tertutup, sehingga hidup secara alamiah di hutan (Otis 1991; Hadisoesilo 2001; Raffiudin 2002).

Lebah madu Sulawesi pertama kali dikoleksi oleh A. R. Wallace yang dilaporkan oleh Smith pada tahun 1859 dan dinamakan *A. zonata*, spesies lebah madu dengan ukuran tubuh besar mirip dengan *A. dorsata* yang hidup di Asia Tenggara dan Cina. Nama lebah tersebut kemudian berubah menjadi *Megapis zonata* oleh Ashmead tahun 1904, *A. dorsata* Binghami oleh Cockerell tahun 1906 dan *M. binghami* oleh Maa tahun 1953. *A. dorsata* lebih banyak digunakan sampai saat ini (Ruttner, 1988; Otis, 1991; Hadisoesilo, 1997). Subspesies *A. dorsata* yang hanya terdapat di pulau Sulawesi dan pulau-pulau di sekitarnya, oleh beberapa ahli perlebahhan seperti Maa, dianggap merupakan satu spesies tersendiri dan diberi nama *Apis dorsata* Binghami Cockerell. Perbedaan morfologi dan perilaku cara bersarang *A. dorsata dorsata* dan *A. dorsata* merupakan dasar pemikiran pemisahan ini. Warna abdomen dari *A. dorsata* hitam dengan garis/strip putih sedangkan abdomen *A. dorsata dorsata* agak kecoklatan dengan garis/strip oranye (Hadisoesilo, 2001). Walaupun demikian masih sangat sedikit penelitian tentang *A. dorsata* yang berada di Sulawesi Utara.

Laporan tentang penelitian lebah madu asal Sulawesi, dilakukan oleh F. Smith pada tahun 1861 yang mendeskripsikan lebah madu yang dikoleksi oleh A. R. Wallace, dimana lebah tersebut diambil di daerah dekat Makassar dan dikenal dengan nama *A. nigro-cincta*. Deskripsi lebah tersebut tidak jelas khususnya karakteristik warna antena, clypeus, labrum, mandibula, tungkai, dan abdomen. Sampai saat ini *A. nigrocincta* baru ditemukan di Sulawesi dan Sangehe (Otis, 1996; Damus dan Otis, 1997). Dalam klasifikasi Maa tahun 1953, jenis lebah ini sudah dikemukakan sebagai satu spesies tersendiri. Akan tetapi karena diskripsinya tidak jelas, akhirnya lebah ini dijadikan satu spesies dengan *A. cerana*. *A. nigrocincta* dinyatakan sebagai satu spesies tersendiri setelah terbukti bahwa waktu penerbangan lebah jantan *A.*

nigrocincta, berbeda dengan waktu penerbangan lebah jantan *A. cerana* (Hadisoesilo dan Otis, 1996).

Hal lain yang mendukung bahwa *A. nigrocincta* merupakan spesies tersendiri adalah struktur tutup sel lebah jantan *A. nigrocincta*, yang berbeda dengan tutup sel lebah jantan *A. cerana* dan *A. koschevnikovi*. Tutup sel lebah jantan *A. nigrocincta* tidak keras, tidak berbentuk kerucut, dan tidak berlubang di atasnya sedangkan pada *A. cerana* dan *A. koschevnikovi* tutup sel ini keras, berbentuk kerucut dan berlubang di atasnya (Hadisoesilo dan Otis, 1998). Secara morfologis lebah ini mirip sekali dengan *A. cerana*, hanya sedikit lebih besar (Hadisoesilo, 2001).

Walaupun demikian masih sedikit peneliti yang mengkaji lebah madu yang ada di Sulawesi Utara. Hadisoesilo (1997) pernah melakukan penelitian tentang lebah madu yang bersarang pada rongga pohon atau gua dengan lebih banyak mengambil sampel di Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tengah dan tidak mengkaji lebah madu yang ada di Sulawesi Utara. Palmer *et. al.*, (2001) melakukan penelitian frekuensi paternitas *A. nigrocincta* dengan mengambil sampel di Airmadidi, tetapi tidak melakukan analisis morfometri dan sampel lebah yang digunakan adalah lebah ratu yang hanya berasal dari satu daerah. Dengan demikian, relatif pengkajian morfometri lebah madu endemik yang berada di Sulawesi Utara, masih sangat sedikit dan belum dipublikasi pada jurnal internasional.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi morfometri lebah madu *A. dorsata* yang hidup liar di hutan dengan persarangan terbuka dan *A. nigrocincta* dengan persarangan pada rongga atau lubang. *A. nigrocincta* yang hidup allopatrik dengan *A. cerana*, tetapi menjadikan habitat hidup pada daerah yang masih jauh dari pemukiman penduduk, dibandingkan *A. cerana* yang hidup dekat dengan daerah pemukiman.

Analisis morfometri lebah madu adalah pengukuran dan analisis bentuk anatomi lebah madu. Teknik ini masih banyak digunakan karena relatif cepat, akurat, murah, dan dapat dilakukan pada spesimen yang ada di laboratorium. Analisis morfometri pernah dilakukan oleh Ken *et. al.*, (2003) pada lebah madu *A. cerana* yang berada di Propinsi

Yunan Cina dan kemudian dia membandingkan data hasil morfometrinya dengan data morfometri spesies yang sama yang hidup di Jepang, Nepal, Thailand, Vietnam dan Beijing. Hasil penelitiannya juga menunjukkan bahwa lebah madu, di Propinsi Yunan Cina memiliki derajat variasi morfologi menurut letak geografi dan berbeda dengan daerah lainnya, akan tetapi masih ditempatkan dalam satu spesies. Selanjutnya dilakukan oleh Hadisoesilo *et. al.*, (2007), pada spesies *A. koschenikovi*. Rahimi dan Asadi, (2010) pada *A. mellifera meda* di Iran dan Cao *et. al.*, (2012) pada spesies lebah *A. dorsata*. dan *A. labriosa* di Cina.

Sampel lebah *A. dorsata* yang diteliti berasal dari Kabupaten Minahasa Utara dan Kabupaten Minahasa khususnya daerah Kombi dan Pangu Ratahan, Sulawesi Utara. Penentuan lokasi penelitian didasarkan pada letak ketinggian tempat dan vegetasi tumbuhan sumber pakan yang tersedia. Penelitian ini menjadi menarik, karena selain belum banyak laporan penelitian tentang morfometri lebah madu yang hidup di Sulawesi Utara, juga Sulawesi Utara dikenal sebagai pusat biodiversitas di Pulau Sulawesi.

Potensi Lebah Madu Sulawesi

Lebah madu merupakan species dari kelas insekta yang sangat bermanfaat bagi manusia dan memiliki peran ekologis yang sangat penting. Lebah madu dan berbagai produk metabolit sekundernya seperti madu, propolis dan racun telah dimanfaatkan manusia sejak zaman prasejarah sebagai bahan pangan dan bahan obat. Dari segi ekologi lebah madu dikenal sebagai organisme pollinator. Lebah dari 70% penyerbukan pada tumbuhan berbunga dilakukan oleh species lebah madu dan setiap tahunnya sekitar 6,1 miliar dollar produk pertanian dihasilkan dari jasa penyerbukan oleh lebah madu.

Sebagai daerah tropis, Indonesia kaya akan keanekaragaman tumbuhan dan hewan. Di Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 7 species lebah madu endemic atau terbanyak di dunia (Hadisoesilo, 2001). Dua species endemic di antaranya terdapat di Pulau Sulawesi yaitu *Apis dorsata* Binghami dan *Apis nigrocincta*. Oleh karena daya adaptasi lebah yang sangat kuat dan perilaku lebah sebagai hewan social, menyebabkan variasi pada

berbagai species lebah madu sangat tinggi. Lebah akan hidup dari koloninya dan tidak dapat bertahan hidup apabila terpisah dengan koloni asalnya untuk bergabung dengan koloni lainnya. Kondisi ini menyebabkan variasi morfologi lebah sangat tinggi walaupun masih dalam satu daerah tetapi terpisah berdasarkan ketinggian atau sumber pakan. *Apis dorsata* Binghami yang berasal dari Kombi memiliki rata-rata panjang tubuh lebih panjang dibandingkan dengan *Apis dorsata* Binghami yang hidup di daerah Paslaten, Kaweruan dan Wasian Minahasa Utara (Mokosuli et. al. 2013).

Kekayaan hayati merupakan anugerah sang pencipta yang tidak ternilai harganya. Lebah madu yang ada di Sulawesi Utara yang adalah spesies endemic adalah salah satu kekayaan hayati Indonesia yang tidak dapat ditemukan di belahan bumi yang lain. *Apis dorsata* Binghami adalah lebah madu dengan produktivitas madu tertinggi dari semua species lebah madu di seluruh dunia. Walaupun demikian sampai saat ini para ilmuwan lebah belum mampu menangkarkan species lebah madu ini. Disamping madu yang telah lama dikenal dan dimanfaatkan manusia sebagai bahan pangan, obat dan kosmetik; racun lebah salam satu decade ini banyak diteliti oleh kedokteran herbal dan bahan alam oriental (Cina dan Korea) sebagai bahan baku untuk terapi kanker. Racun lebah memiliki kandungan bioaktif enzim, peptide, monosakarida dll yang berpotensi obat karena memiliki bioaktivitas antikanker, antibakteri, artritis dll.

Secara ekologi kelimpahan populasi lebah ini seiring dengan musim berbunga berbagai jenis tanaman buah dan tanaman berbunga lainnya. Dengan demikian terdapat hubungan mutualistik antara lebah dan tanaman berbunga dan oleh jasa lebah sehingga produksi buah dapat berlangsung dari tahun ke tahun. Dari satu sisi, tumbuhan dapat melangsungkan siklus reproduksinya karena proses polinasi yang dibantu oleh lebah sehingga dapat tertentuk zigot dalam perkembangan embrionik tumbuhan, pada sisi yang lain lebah mendapatkan pakan untuk kelangsungan hidup koloninya. Berbagai penelitian menemukan bahwa lebah menggunakan rata-rata lebih dari 100 jenis bunga untuk dapat membuat madu dan

metabolit sekunder lainnya. Lebah membutuhkan nektar yang dihasilkan oleh tubuhan berbunga dan diambil dengan proboscis lebah sebagai sumber karbohidrat dan bahan baku pembuatan madu, juga polen sebagai sumber protein untuk pertumbuhan lebah dalam menyelesaikan siklus metamorfosisnya. Beberapa hal di atas menjadi alasan mengapa variasi morfologi lebah sangat tinggi.

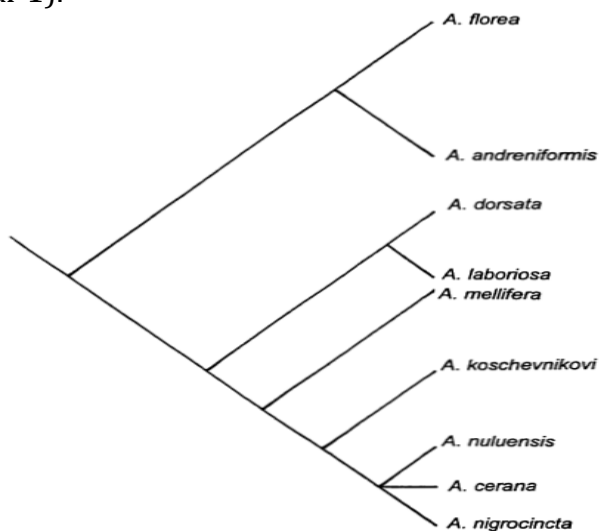
Potensi bioaktif lebah terutama racun lebah sebagai patut diteliti untuk pengembangannya sebagai biofarmaka bagi kesejahteraan manusia. Potensi racun lebah untuk antikanker perlu terus menerus diteliti karena prevalensi penyakit kanker ini meningkat dari tahun ke tahun dan belum ditemukan obat kanker yang efektif untuk semua jenis kanker. Dari beberapa pemikiran inilah, penelitian ini dilaksanakan disamping peneliti telah melakukan penelitian pendahuluan tentang lebah madu endemic Sulawesi.

1.2. Biologi Lebah Madu

Lebah madu termasuk dalam genus *Apis* anggota ordo Hymenoptera, sub ordo Apocrita, infraordo Aculeata, superfamili Apoidea, Famili Apidae, dan sub famili Apinae. Lebah madu mencakup sekitar tujuh spesies lebah dalam genus *Apis* dari sekitar 20.000 spesies yang ada. Saat ini dikenal sekitar 44 subspesies. Lebah madu yang ada di alam Indonesia adalah *A. andreniformis*, *A. cerana* (lebah madu timur) dan *A. dorsata* (lebah madu raksasa), serta khusus di Kalimantan terdapat *A. koschevnikovi*. Lebah madu yang paling banyak dibudidayakan adalah *A. mellifera* (lebah madu barat). Di Sulawesi terdapat lebah madu endemik yaitu *A. nigrocincta* yang memiliki karakteristik mirip dengan *A. mellifera* (Hadisoesilo, 1997; Rika, 2002).

Sekitar 300 spesies lebah telah diidentifikasi di dunia. Kebanyakan diantaranya hidup di tempat terpencil dan tidak menghasilkan madu. Spesies lebah madu yang paling dikenal adalah *A. mellifera* atau dikenal dengan sebutan lebah madu barat. Sampai saat ini telah diketahui *A. mellifera* terdiri atas 24 strain. Strain dengan nilai ekonomi tertinggi karena produksi madunya adalah *A.*

mellifera liquistica. Menurut Engel dan Schultz (1997), berdasarkan hubungan filogenetik *A. nigrocincta* memiliki hubungan nenek moyang yang lebih dekat dengan *A. cerana*, *A. nuluensis*, *A. koschevnikovi*, dan *A. mellifera* dibandingkan dengan *A. dorsata*. *A. dorsata* memiliki hubungan filogeni yang lebih dekat dengan *A. laboriosa* (Gambar 1).



Gambar 1. Filogeni lebah madu (Engel dan Schultz, 1997).

Lebah madu hidup dalam satu koloni terdiri atas ribuan individu. Lebah hidup secara sosial terdiri atas lebah jantan dan ratu sebagai anggota reproduktif dari koloni. Hanya satu ratu yang ada dalam koloni (monogenik) tetapi dapat dibuahi lebih dari 10 pejantan (poliandri) (Palmer dan Oldroyd, 2001). Lebah pekerja bersifat steril walaupun memiliki kemampuan reproduktif yang terbatas (Ratnieks 1995; Halling *et. al.*, 2001). Dalam satu koloni lebah sekitar 50.000 sampai dengan 60.000 lebah pekerja steril, 500 sampai 1000 lebah pejantan (*drone*); hanya satu ratu sebagai betina fertil dalam satu koloni (Bishop, 2005).

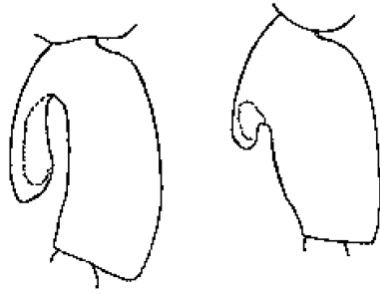
Lebah madu adalah hewan model yang penting dalam mempelajari tingkah laku sosial hewan, komunikasi hewan, strategi respons terhadap penyakit dan parasitis, respons terhadap bencana alam. Dalam bidang farmakologi pemanfaatan produk metabolit lebah antara lain madu, royal jelly dan senyawa racun sebagai agen

antikanker (Perez, 2007). Akhir-akhir ini juga dilaporkan bahwa sistem sensori lebah sangat peka untuk mendeteksi bom.

Lebah Madu yang Bersarang di Tempat Terbuka (Open-Nesting Honey Bees) (Hadisoesilo, 2001).

***Apis andreniformis* F. Smith, 1858 dan *Apis florea* Fabricius, 1787**

Apis andreniformis hanya tersebar di bagian barat garis Wallace (Otis, 1996) pada ketinggian antara 0-500 m. di atas permukaan laut (Salmah *et al.*, 1990; Otis, 1996), sedangkan penyebaran *A. florea* di Indonesia belum diketahui secara pasti sampai saat ini. Specimen *A. florea* yang ada di berbagai museum dikoleksi dari Jakarta dan Surabaya (Otis, 1996, observasi pribadi) namun keberadaan *A. florea* di Indonesia masih dipertanyakan karena sampai saat ini memang belum ada laporan lagi tentang ditemukannya *A. florea* di daerah lain di Indonesia. Semula kedua species ini dianggap sebagai satu species, *A. florea*, tetapi kemudian dapat dibuktikan bahwa *A. andreniformis* secara reproduksi terpisah dari *A. florea* berdasarkan waktu penerbangan lebah jantan (Rinderer *et al.*, 1993) serta anatomi alat kelamin lebah jantan (*endophallus*) yang berbeda dari kedua species ini (Wongsiri *et al.*, 1990). *Apis andreniformis* merupakan species yang ukuran tubuhnya paling kecil, lebih kecil dari *A. florea* (Tabel 1). Sarang kedua species lebah madu ini dapat ditemukan di tempat terbuka, biasanya menggantung di ranting atau dahan semak-semak atau pohon yang kecil serta terlindung daun-daunan. Ketinggian sarang dari atas tanah hanya sekitar 5 m. Sarang lebah ini hanya terdiri dari satu sisiran dengan luas sekitar 150-250 cm² untuk *A. andreniformis* dan 200-500 cm² *A. florea* (Wu dan Kuang, 1987).



Gambar 2. Tungkai (kaki) belakang lebah jantan *A. florea* (kiri) dan *A. andreniformis* (kanan). Perhatikan perbedaan panjang cuping (*lobe*). Digambar ulang dari Wu dan Kuang, 1987.

Secara morfologis kedua species ini dapat dibedakan berdasarkan warna abdomen lebah pekerja. Dua ruas pertama dan sebagian ruas ketiga abdomen *A. florea* biasanya berwarna merah kecoklatan, sedangkan pada *A. andreniformis* abdomennya berwarna hitam dengan garis putih (Otis, 1991). Menurut Wu dan Kuang (1987) kaki belakang lebah jantan dari kedua species ini mempunyai cuping (*lobe*), akan tetapi pada *A. florea* cuping ini lebih panjang dari pada lekukan pada *A. andreniformis*. Pada *A. florea* panjangnya lebih dari setengah kaki belakang, sedangkan pada *A. andreniformis* kurang dari setengah panjang kaki belakang (Gambar 1). Wongsiri *et al.* (1990) juga menyatakan bahwa indeks cubital dari kedua species ini juga merupakan ciri yang khas. Indeks cubital untuk *A. florea* sekitar 2,78 sedangkan pada *A. andreniformis* nilainya sekitar 6,07.

***Apis dorsata* Fabricius, 1793**

Apis dorsata dapat ditemukan hampir di seluruh kepulauan di Indonesia kecuali Maluku dan Irian Jaya (Ruttner, 1988). Dari tiga subspecies *A. dorsata*, dua diantaranya terdapat di Indonesia yakni *A. dorsata dorsata* dan *A.d. binghami* sedangkan subspecies yang ketiga *A.d. breviligula* terdapat di Filipina (Sakagami *et al.*, 1980). Secara morfologis, *A. dorsata* merupakan species lebah

madu asli Indonesia dengan ukuran tubuh paling besar. Selain itu species ini juga terkenal sangat agresif di bandingkan dengan species lebah madu lain yang terdapat di Indonesia.

Seperti halnya *A. florea* dan *A. andreniformis*, sarang *A. dorsata* hanya terdiri dari satu sisiran sarang tetapi amat besar dengan ukuran luas mencapai lebih dari 1 m². Sarangnya juga terdapat di tempat terbuka, menggantung pada dahan pohon-pohon yang besar misalnya pohon kempas (*Kompassia excelsa*) setinggi lebih dari 10 m di atas permukaan tanah. Letak sarang *A.d. dorsata* biasanya berdekatan satu dengan yang lain, pada satu pohon dapat ditemukan puluhan koloni (pengamatan pribadi).

Subspecies *A. dorsata binghami* yang hanya terdapat di pulau Sulawesi dan pulaupulau di sekitarnya, oleh beberapa ahli perlebahhan seperti Maa (1953) dianggap merupakan satu species tersendiri, *A. binghami* Cockerell. Perbedaan morfologi dan perilaku cara bersarang *A.d. dorsata* dan *A.d. binghami* merupakan dasar pemikiran pemisahan ini. Warna abdomen dari *A.d. binghami* hitam dengan garis/strip putih sedangkan abdomen *A.d. dorsata* agak kecoklatan dengan strip oranye.

Selain itu, perilaku bersarang *A.d. binghami* berbeda dengan cara bersarang *A.d. dorsata*. Pada satu pohon biasanya hanya dihuni oleh satu atau dua koloni *A.d. binghami* (pengamatan pribadi). Agregasi koloni yang pernah diinformasikan kepada penulis paling banyak hanya 10 koloni pada satu pohon.

Dasar pemikiran yang tidak menerima *A.d. binghami* sebagai species tersendiri adalah adanya persamaan alat kelamin lebah jantan antara kedua subspecies ini (G. Koeniger,pers. comm.) dan waktu penerbangan lebah jantan yang sama yakni sesaat sesudah matahari terbenam (pengamatan pribadi). Oleh karena daerah penyebaran dari *A.d. binghami* sampai saat ini baru diketahui di Sulawesi, kepulauan Sula dan pulau Butung (Otis, 1996), tidak tumpang tindih dengan daerah penyebaran *A.d. dorsata*, keabsahan pendapat bahwa lebah ini merupakan satu species tersendiri masih diragukan. Sampai saat ini baru ada kesepakatan bahwa lebah ini hanyalah merupakan salah satu subspecies dari *A. dorsata*,

dan disebut *A. dorsata binghami*, sampai nanti ada bukti kuat yang membuktikan bahwa kedua subspecies ini secara reproduksi terisolasi.

Lebah Madu yang Bersarang di tempat Tertutup (Cavity-nesting Honey Bee)

Lebah madu yang bersarang di tempat tertutup terdiri dari *Apis cerana*, *A. koschevnikovi*, *A. nigrocincta* dan *A. nuluensis*. Seperti halnya *A. andreniformis* dan *A. florea*, keempat species lebah madu inisebelum akhir dekade 1980 dianggap satuspecies dengan *A. cerana* (Gould dan Gould, 1988; Ruttner, 1988). Setelah penelitian lebahmadu di Asia dilakukan lebih intensif, ternyata diantara keempat lebah madu tersebut adaisolasi reproduksi, alat kelamin lebah jantan (*endophallus*) dan atau waktu terbang lebahjantan berbeda. Kecuali *A. nuluensis*, ketigasppecies lebah madu lainnya telah ditemukan diIndonesia. Keempat species lebah inisarangnya terdiri dari beberapa sisiran danbiasanya terdapat ditempat yang tertutup.

***Apis cerana* Fabricius, 1793**

Apis cerana tersebar hampir disemuakepulauan di Indonesia, sampai ke Timorkecuali di Maluku dan Irian. Menurut beberapasumber, *A. cerana* yang ada di Ambon danIrian bukanlah lebah asli pulau itu melainkandidatangkan dari daerah lain (Ruttner, 1988). Secara morfologis, ukuran tubuh *A. cerana* adalah yang paling kecil di antara keempatspecies lebah madu yang membentuk sarangdi tempat tertutup. Namun demikian diantara *A. cerana* sendiri ukuran tubuh mereka jugaberbeda dari satu lokasi ke lokasi yang lain.

***Apis koschevnikovi* Buttel-Reepen, 1906**

Specimen *A. koschenikovi* yang disimpandi berbagai museum dikoleksi dari berbagailokasi di Indonesia (Otis, 1996), namunberdasarkan survai yang dilakukan akhir-akhirini, koloni jenis lebah ini baru ditemukan disekitar Muaro, Solok, Sumatra Barat (Ruttner *et al.*, 1989) dan di

sekitar Barabai, Kalimantan Selatan (Hadisoesilo *et al.*, 1999). Secara morfologis, lebah ini berukuran lebih besar sekitar 15% dibandingkan dengan *A. cerana* (lihat Tabel 1), warnanya agak kemerah-merahan. Jam terbang lebah jantan *A. koschenikovi* berbeda dengan waktu penerbangan lebah jantan *A. cerana* (Tingek *et al.* 1988, 1996), demikian juga dengan anatomi endophalinya juga berbeda antar kedua species tersebut (Tingek *et al.*, 1988).

***Apis nigrocincta* F. Smith, 1861**

Sampai saat ini *A. nigrocincta* baru ditemukan di Sulawesi, Sangehe (Otis, 1996; Damus dan Otis, 1997). Dalam klasifikasi Maa (1953), jenis lebah ini sudah dikemukakan sebagai satu species tersendiri. Akan tetapi karena diskripsinya tidak jelas, akhirnya lebah ini dijadikan satu species dengan *A. cerana*. *Apis nigrocincta* dinyatakan sebagai satu species tersendiri setelah terbukti bahwa waktu penerbangan lebah jantan *A. nigrocincta* berbeda dengan waktu penerbangan lebah jantan *A. cerana* (Hadisoesilo dan Otis., 1996).

Hal lain yang mendukung bahwa *A. nigrocincta* merupakan species tersendiri adalah struktur tutup sel lebah jantan *A. nigrocincta* yang berbeda dengan tutup sel lebah jantan *A. cerana* dan *A. koschevnikovi*. Tutup sel lebah jantan *A. nigrocincta* tidak keras, tidak berbentuk kerucut, dan tidak berlubang di atasnya sedangkan pada *A. cerana* dan *A. koschevnikovi* tutup sel ini keras, berbentuk kerucut dan berlubang di atasnya (Hadisoesilo dan Otis, 1998). Secara morfologis lebah ini mirip sekali dengan *A. cerana*, hanya sedikit lebih besar (Hadisoesilo *et al.*, 1996; Hadisoesilo, 1997, Tabel 1), tidak ada ciri khas yang membedakan kedua species ini (Dr. M. Engels, pers. comm.), kecuali warna tubuhnya yang lebih kuning, clipeus serta femur kakibelakang juga berwarna kuning. Walaupun sudah dibuktikan bahwa *A. nigrocincta* berbeda species dengan *A. cerana*, anatomia alat kelamin lebah jantan (*endophalli*) dari kedua species ini tidaklah berbeda (Hadisoesilo, 1997). Hal ini menyimpang dari penelitian yang sudah diperoleh terdahulu dimana perbedaan species lebah madu

biasanya dapat diketahui hanya dengan melihat perbedaan anatomi *endophalli* saja.

***Apis nuluensis* Tingek, Koeniger, and Koeniger, 1996**

Apis nuluensis sampai saat ini baru ditemukan di Sabah, Borneo (Tingek *et al.*, 1996), pada ketinggian di atas 1700 m.d.p.l. Jenis lebah ini dibuktikan merupakan suatu jenis tersendiri setelah terbukti bahwa jam terbang lebah jantannya berbeda dengan jam terbang keempat jenis lebah madu yang ada di Sabah yakni *A. andreniformis*, *dorsata*, *cerana*, dan *koschevnikovi* (Tingek *et al.*, 1996). Penelitian biologi *A. nuluensis* masih terus dilakukan. Apakah jenis lebah ini juga terdapat di wilayah Indonesia belum dapat dipastikan dan ini merupakan suatu tantangan lagi bagi peneliti perlebah di Indonesia.

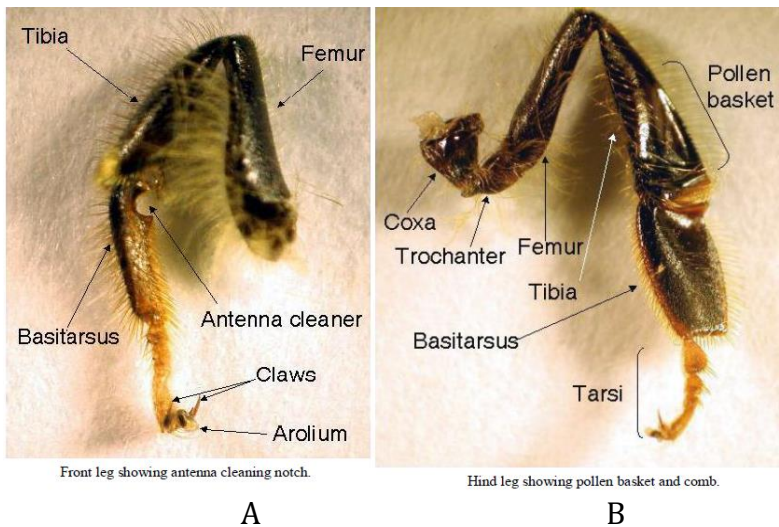
Kekayaan Indonesia akan jenis lebah madu tidak diragukan lagi, jauh lebih banyak dari yang diperkirakan semula. Namun penelitian terhadap kekayaan lebah madu di Indonesia sebaiknya terus dilakukan mengingat masih banyak tempat yang belum diteliti lebahnya terutama di lokasi yang sudah lama terisolir. Konfirmasi mengenai ada tidaknya *A. florea* serta *A. nuluensis* dan bagaimana sebarannya di Indonesia perlu dilakukan. Pendekatan penelitian dapat dilakukan baik secara morfologis, genetis, maupun perilaku. Untuk dapat memanfaatkan kekayaan alam kita akan lebah madu secara optimal, perlu segera dilakukan penelitian secara lebih intensif baik yang bersifat dasar, terutama mengenai biologi dan perilaku, maupun yang bersifat terapan terutama untuk jenis-jenis yang baru ditemukan dan khususnya untuk jenis yang hanya terdapat di Indonesia.

1.3. Morfologi dan fisiologi lebah madu

Seperti halnya dengan anggota kelas insekta lainnya, struktur tubuh lebah madu terdiri atas tiga bagian, yaitu kepala, toraks, dan abdomen. Pada kepala terdapat mata majemuk yang digunakan untuk melihat jarak jauh, mengarahkan lebah terbang ke arah matahari. Tiap mata majemuk terdiri atas 3000 sampai dengan 5000 unit-unit omatidia. Mata majemuk tidak memproyeksikan benda

dengan tajam, tetapi dapat mengidentifikasi warna dengan baik. Lebah dengan mudah akan mengidentifikasi warna biru, kuning, putih, dan hitam (Stone, 2005). Mata tunggal (oceli) terletak di bagian depan atas kepala. Oceli berperan dalam sensor intensitas, panjang gelombang, dan lama paparan cahaya. Menjelang malam sangat berperan mengarahkan lebah kembali ke sarangnya.

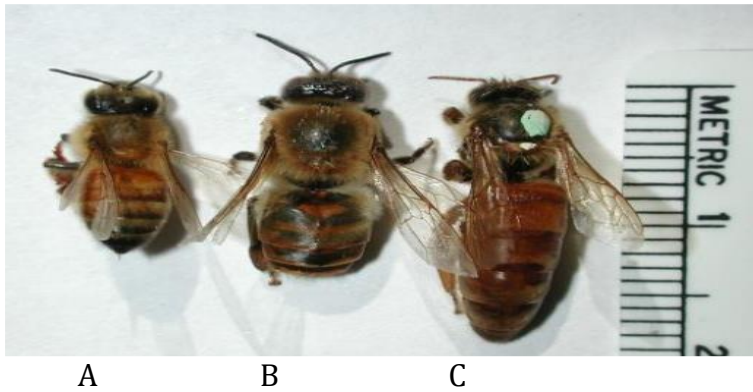
Antena berperan sebagai kemoreseptor, dimana dapat menerima dan menganalisis senyawa volatil, berperan dalam penciuman dan rasa. Antena juga dapat merasakan getaran dan pergerakan udara, bunyi, suhu, dan kelembaban. Pada toraks terdapat tungkai dan sayap. Pada bagian ujung tungkai, terdapat struktur, yaitu tarsi yang dapat merasakan sentuhan, terutama mendeteksi kualitas dan konsentrasi substansi kimia antara lain serbuk sari (Gambar 3) (Stone, 2005).



Gambar 3. Morfologi tungkai lebah. A. Morfologi tungkai depan B. morfologi tungkai belakang (Stone, 2005).

Pada tungkai belakang, terdapat struktur khusus pembersih antena, sedangkan pada tungkai depan, terdapat struktur yang disebut kotak polen. Struktur ini berfungsi sebagai tempat penyimpanan polen pada saat lebah mencari makanan (Gambar 2). Lebah pekerja

memiliki ukuran tubuh yang paling kecil dibandingkan lebah jantan dan lebah ratu (Gambar 4).



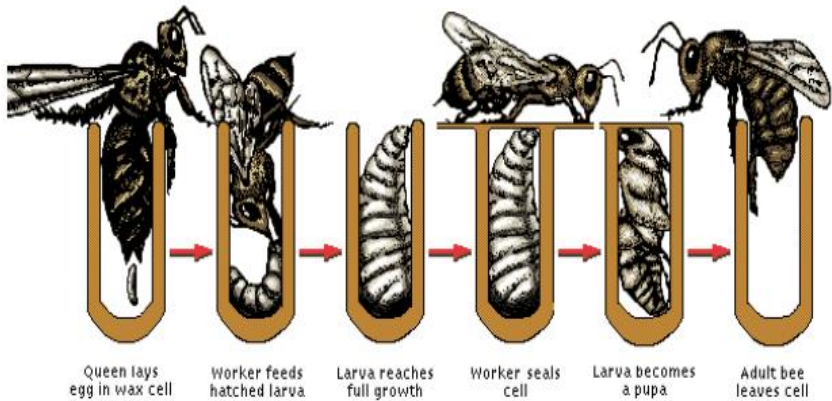
Gambar 4. Perbandingan lebah pekerja (kiri), lebah jantan fertil /drone (tengah) dan lebah ratu (kanan) dari *A. mellifera* (Stone, 2005).

Sayap lebah memiliki variasi bentuk venasi menurut spesies. Perbedaan venasi sayap dapat digunakan untuk membedakan spesies serangga. Sayap depan biasanya lebih besar dari sayap belakang. Sayap depan dan belakang terikat bersama oleh sekitar kail kecil terletak sepanjang bagian pinggiran dan belakang sayap. Sayap lebah dapat digerakkan 200 kali per detik.

Pada bagian abdomen terdapat tujuh segmen yang terlihat. Segmen pertama sangat kecil, segmen ketujuh lebah pekerja dan ratu terdapat sengat (sting). Pada bagian abdomen, juga terdapat kelenjar yang mensekresikan wax untuk membentuk sarang madu. Sengat dimodifikasi menjadi ovipositor, oleh karena itu hanya ditemukan pada betina (Raffiudin, 2002).

Lebah madu mengalami metamorfosis sempurna (holometabola). Tahapan perkembangan lebah madu mulai dari telur, larva, pupa, dan dewasa (Gambar 5). Stadia telur sekitar 3 hari, larva 5 hari, dan pupa 13 hari, selanjutnya memasuki stadia imago. Telur lebah madu oleh lebah ratu diletakkan pada kamar-kamar sarang lebah. Pada *A. mellifera*, telur berbentuk silindris dengan panjang sekitar 1,6 mm dan diameter 0,4 mm. Larva lebah madu menggulung pada kamar-kamar sarang lebah, berwarna

putih dengan kepala, toraks, dan abdomen. Larva bertumbuh dan melepaskan kulit sebanyak lima kali. Pada tiga hari pertama, larva makan royal jelly, yaitu cairan susu kaya protein dihasilkan dari kelenjar pada kepala lebah pekerja. Selanjutnya larva akan memakan campuran madu dan polen yang dibawa oleh lebah pekerja. Stadia pupa merupakan stadia dimana tidak terjadi aktivitas makan. Pada stadia ini ditransformasi menjadi lebah dewasa. Sekitar 10 hari larva membuat kokon (bagian pelindung) dan disebut pupa. Oleh serangkaian aktivitas hormon metamorfosis, larva akan berubah menjadi lebah dewasa dan keluar dari dalam pupa (Hamdan, 2009).



Gambar 5. Tahapan perkembangan lebah madu (Hamdan, 2009).

1.4 Lebah Madu di Sulawesi

Lebah madu Sulawesi pertama kali dikoleksi oleh A.R. Wallace dilaporkan oleh Smith 1859 dan dinamakan *A. zonata*. *A. zonata* memiliki kemiripan dengan *A. dorsata* yang berasal dari Asia Tenggara. Nama *A. zonata* kemudian dirubah menjadi *Megapis zonata*, *A. dorsata* Bingham dan *M. binghami* (Hadisoesilo, 1997). Dari aspek morfologis dan perilaku spesies ini berbeda dengan *A. dorsata*. Smith pada tahun 1861 juga melaporkan bahwa ditemukan spesies berbeda di Sulawesi Selatan dan diberi nama *A. nigro-cincta* (Gambar 6 dan Gambar 7). Spesies lebah Sulawesi ini memiliki morfologi dan tingkah laku yang sangat berbeda dengan *A. dorsata*.

A. nigrocincta, pertama kali dideskripsi oleh Smith tahun 1861 dari koleksi A.R. Wallace. Lebah pekerja berwarna kuning pucat dengan antena berbentuk scape, clypeus, labrum, mandibula, scutellum, tungkai dan abdomen. Morfologinya berbeda dengan *A. cerana* dalam hal femur, tibia, panjang metatarsus, targite III dan IV dan sayap depan memiliki kubital indeks $3,84 \pm 0,228$. Terjadi isolasi reproduksi dengan spesies simpatriknya *A. cerana* dimana waktu kawin lebah jantan akan terbang sekitar jam 12.30 – 14.30 (*A. cerana* sedangkan *A. nigrocincta* pada jam 15.20 sampai 17.30 dan berbeda organ kelamin jantan (waktu kawin 2 jam lebih awal dari *A. nigrocincta*). Sel-sel kepala dari *A. nigrocincta* tersusun atas wax tanpa pori sedangkan pada lebah jantan *A. cerana* sel-sel kepala keras dan berpori. *A. nigrocincta* adalah spesies endemik di Sulawesi, Pulau Sangihe, Pulau Selayar dan Buton. *A. nigrocincta* merupakan spesies simpatrik dengan *A. cerana* (Raffiudin, 2002).



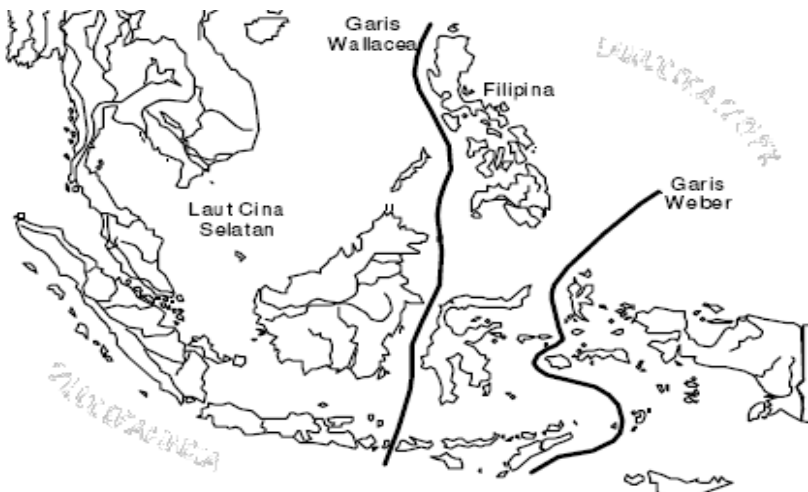
Gambar 6. Lebah madu endemik Sulawesi *A. nigrocincta*

Penelitian lebih lanjut terhadap lebah madu Sulawesi memiliki warna antena, clypeus, labrum, mandibula, tungkai dan perut yang berbeda dengan spesies lebah lain di dunia. Isolasi geografis menyebabkan spesies lebah Sulawesi berbeda dengan spesies lebah lain di berbagai belahan dunia. Hasil studi morfometri dan analisis genetik yaitu polimorfisme DNA mitokondria membuktikan bahwa *A. nigrocincta* merupakan spesies yang berbeda dengan *A. cerana* di Sulawesi (Damus dan Otis, 1995; Hadisoesilo *et. al.*, 1995; Smith dan Hagen, 1996). *A. nigrocincta* memiliki frekuensi paternitas

terbesar dibandingkan dengan *A. dorsata*, *A. laboriosa* dan *A. nuluensis* (Palmer *et. al.*, 2001). Maa (1953) menyatakan bahwa *A. nigrocincta* yang membuat sarang di hutan-hutan di Sulawesi, akan tetapi ditemukan juga Sangehe dan Filipina.

Koloni *A. nigrocincta* umumnya ditemukan pada ketinggian di atas 400 m sedangkan koloni *A. cerana* ditemukan pada ketinggian di bawah 400 m. *A. cerana* ditemukan mulai dari daerah pinggir pantai sampai hutan yang berdekatan dengan kawasan pertanian (Ruttner, 1988). Persarangan *A. nigrocincta* lebih banyak ditemukan di hutan yang berjauhan dengan lokasi pertanian (Hadisoesilo, 1997).

Dalam mencari makan lebah *A. cerana* terbang lebih awal dua jam dibandingkan dengan *A. nigrocincta*. *A. nigrocincta* lebih banyak hidup di hutan dengan sarang berukuran sedang dibandingkan dengan *A. cerana* yang menyukai hidup pada kawasan pertanian (Hadisoesilo, 1997). *A. nigrocincta* berbeda spesies dengan *A. cerana* didasarkan pada morfologi, polimorfisme DNA mitokondria dan waktu terbang lebah jantan (Damus dan Otis, 1997; Smith dan Hagen, 1996).



Gambar 7 Pulau Sulawesi (daerah transisi) dikelilingi oleh banyak Pulau memiliki flora dan fauna yang berbeda dengan kawasan Indonesia bagian barat dan kawasan Indonesia bagian timur (Hadisoesilo, 1997 dan Baker, 1999).

1.5. Sumber pakan dan bentuk persarangan lebah madu

Pakan utama bagi lebah madu adalah nektar dan polen. Nektar adalah cairan manis yang terdapat di dalam bunga tumbuhan. Hampir semua tumbuhan berbunga adalah penghasil nektar. Selain nektar, lebah juga memerlukan polen dan air untuk kelangsungan hidup anggota koloni. Nektar dan polen juga mengandung air untuk kehidupan lebah madu. Nektar merupakan cairan sekresi yang mengandung berbagai jenis gula karena kandungan gula tersebut sehingga nektar berasa manis. Oleh lebah madu nektar akan diproses sebagai madu dan disimpan dalam sarang (Anendra, 2010; Rusfidra 2007).

Nektar merupakan suatu produk dari tanaman yang dihasilkan melalui kelenjar nektari. Kelenjar nektar dapat ditemukan pada petal, sepal, stamen atau stigma, tergantung dari jenis tanamannya. Konsentrasi nektar bervariasi antara satu bunga tanaman dengan bunga tanaman lain serta berbeda antara satu daerah dengan daerah lainnya karena setiap tumbuhan memiliki lintasan metabolisme spesifik (Heldt dan Heldt, 2005; Rusfidra 2007). Secara umum ada dua macam nektar yaitu nektar flora dan nektar ekstra flora. Nektar flora adalah nektar yang dihasilkan dari bagian bunga tanaman. Nektar ekstra flora dihasilkan oleh bagian tanaman selain dari bagian bunga misalnya pangkal daun. Lebah memiliki organ khusus untuk menghisap nektar yang disebut probosis (Stone, 2005).

Bahan makanan dasar yang kedua bagi lebah adalah serbuk sari bunga (*polen*). Serbuk sari bunga merupakan bagian dari bunga jantan dari suatu tanaman yang berfungsi sebagai bahan penyerbukan bagi kepala putik bunga betina. Serbuk-serbuk sari terdapat pada bagian tangkai sari bunga jantan (*anther*). Bagi lebah madu serbuk sari bunga berfungsi sebagai sumber utama protein. Lebah madu mempunyai alat dan cara khas untuk mengumpulkan dan membawa serbuk sari yaitu dengan menggunakan tungkai. Untuk membawa serbuk sari dalam bentuk pelet ke sarang, serbuk sari dimasukkan kedalam

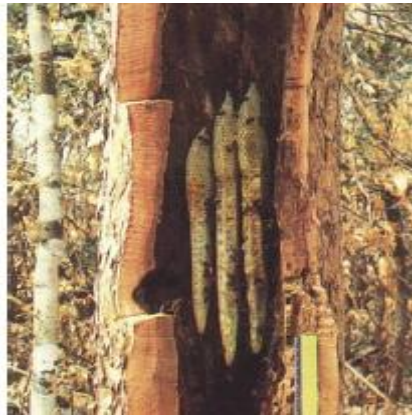
keranjang khusus (*polen bascet/corbicula*) yang terletak di tungkai belakang (Rusfidra 2007).

Serbuk sari bunga mengandung berbagai jenis asam amino protein essensial; asam lemak essensial; berbagai jenis mineral; vitamin A, B, C, D, dan E. Disamping itu juga mengandung hormon pertumbuhan; hormon reproduksi; dan berbagai jenis metabolit sekunder seperti alkaloid yang mempunyai khasiat dalam melakukan stabilisasi metabolisme sel dan pertumbuhan sel normal (regenerasi - rehabilitasi) pada umumnya (PPAP 2007).

Sumber makanan lebah berupa tumbuhan berbunga secara bergiliran sepanjang tahun. Beberapa jenis pohon antara lain puspa (*Stigma noronhae*), kaliandra (*Calliandra calothyrsus*), bungur (*Lagerstroemia speciosa*), jati (*Tectona grandis*) dan waru (*Hibiscus tillaceus*). Jenis pohon buah-buahan antara lain alpokat (*Persea americana*), jambu air (*Eugenia aquea*). Semak-semak antara lain putri malu, kumis kucing, babadotan, padi, alang-alang dan lain-lain. Jenis semak paling banyak dibandingkan pohon. Kebanyakan tepung sari diperoleh dari semak dan tumbuhan bawah. Tepung sari adalah salah satu makanan lebah yaitu sebagai sumber protein, lemak serta mineral. Untuk jumlah nektar paling banyak didapatkan dari rumput-rumputan dibandingkan dengan pohon, walaupun pohon merupakan sumber utama nektar bagi daerah tropis. Jenis lebah liar antara lain *A. indica* bersifat sangat agresif dan tidak tenang, suka bermigrasi pada saat kekurangan makanan. *A. dorsata* belum dapat ditenakkan tetapi merupakan lebah madu dengan produksi madu terbanyak yang diperoleh di hutan. *A. dorsata* lebih produktif dari *A. indica* dalam menghasilkan madu (Hadisoesilo, 2001).

Penelitian yang dilakukan oleh Anendra (2010) menyatakan bahwa nilai rata-rata puncak aktivitas harian mencari polen *A. cerana* pada bulan Oktober lebih rendah dibandingkan dengan bulan Maret dikarenakan variasi polen pada bulan Oktober lebih sedikit dan ketersediaan sumber polen yang terbatas dibandingkan dengan bulan Maret. Intensitas cahaya sangat mempengaruhi aktivitas harian *A. cerana* mencari pakan, karena termasuk kelompok serangga diurnal. *A. cerana* mampu

mempertahankan kondisi suhu udara di dalam sarang pada saat suhu udara rendah dengan cara bergerombol (*cluster*). Sedangkan pada saat suhu udara naik *A. cerana* mengempakkan sayap (*fanning*) dan evaporasi air untuk mendinginkan kondisi di dalam sarang (Anendra 2010). Bentuk persarangan lebah madu di alam ditemukan dalam 2 jenis yaitu bentuk persarangan terbuka (*open nesting*) dan bentuk persarangan pada rongga/lubang pohon (*cavity nesting*) (Gambar 8) (Raffiudin, 2002).



(A)



(B)

Gambar 8. Bentuk persarangan *A. cerana* pada rongga/lubang pohon (A) dan bentuk persarangan terbuka *A. andreniformis* (B) (Sumber : Raffiudin, 2002).

Bentuk persarangan pada rongga pohon ditemukan pada lebah madu *A. mellifera*, *A. cerana*, *A. nigrocincta*, *A. koschevnikovi* dan *A. nuluensis*. Walaupun demikian *A. mellifera* pada keadaan tertentu dapat membentuk persarangan terbuka. Pada bentuk persarangan terbuka hanya memiliki satu sisir tetapi memiliki variasi ukuran persarangan yang sangat besar (Skagami dan Matsumura, 1980; Hadisoesilo, 2001). Ukuran sarang lebah dapat mencapai panjang satu meter sedangkan lebah madu kecil hanya mencapai 20-30 cm (Hadisoesilo, 2001).

Penelitian Lebah Madu *Apis dorsata* Binghami di Minahasa



(A)



(B)



(C)



(D)

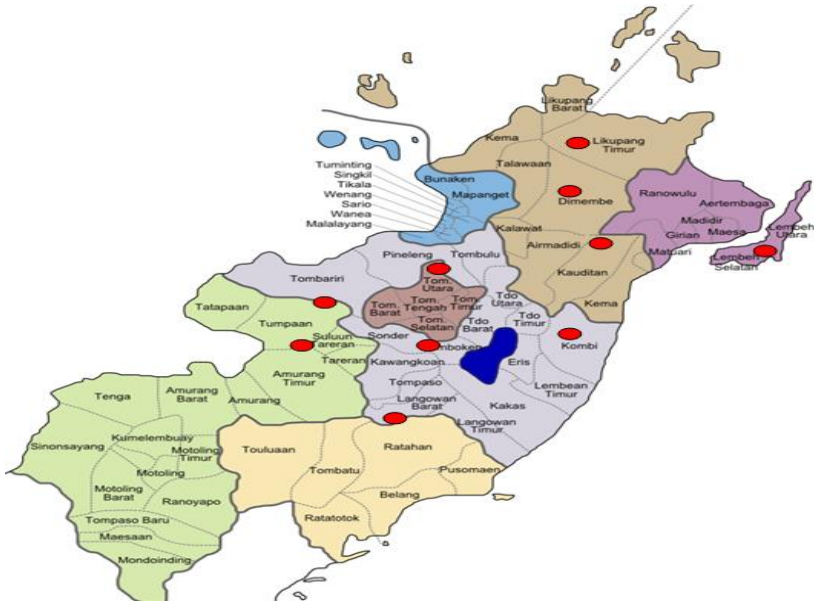
C

D

Gambar 9 Sarang Lebah *A. dorsata* di Perkebunan (A). Paslaten, (B). Kaweruan, (C). Wasian dan (D). Dimembe Kab. Minahasa Utara siap di ambil madunya.



Gambar 10 Sarang lebah *A. dorsata* (Lokasi di Kombi Minahasa).



Gambar 11 Lokasi pengambilan sampel lebah *A. dorsata* Binghami. Bulatan merah menunjukkan lokasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bogdanov S. 2011. *Functional and Biological Properties of the Bee Products: a Review*. www.bee-hexagon.net, Bee Product Science, 1. February 2011
- Boukraa L and Sulaiman SA. 2009. *Rediscovering the Antibiotics of the Hive. Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2009, 4, 206-213
- Bradbear N. 2009. *Bee and their role in forest livelihoods*. FAO, Roma.
- Cao Fei L, Zheng HQ, Chen X, Niu DF, Hu FL, Hepburn HR. 2012. *Multivariate morphometric analysis of giant honey bee, Apis dorsata F. and apis laboriosa F. in China. Journal of Agriculture Research*, 51 (3) : 245 - 251.
- Chmielewska HR and Szczêsna T. 2004. *HPLC study of chemical composition of Honeybee (Apis mellifera L.) Venom. Journal of Apicultural Science*. Vol. 48 No. 2 2004
- Engel, M.S. and T.R. Schultz. 1997. *Phylogeny and behaviour*

- in honey bees (Hymenoptera: Apidae)*. **Ann. Entomol. Soc. Am.** 90: 43-53.
- Ericson EH. Carlson SD and Garmen MB. 2009. A Scanning Electron Atlas of Honey bee. Iowa University Press.
- Free JB. 1982. *Bees and mankind*. George Allen and Unwin (Pub.) Ltd. London, Boston, Sydney.
- Gary NE. 1987. Activities and Behavior of Honey Bees in the Hive and the Honey Bee. Hamilton: **The American Bee Journal**.
- Gupta M. 1992. Scanning electron microscopic studies of antennal sensilla of adult worker *Apis florea* F (Hymenoptera : Apidae). *Apidologie* i(1992) 23, 47-56
- Gojmerac WL. 1983. *Bees, Beekeeping, Honey, and Pollination*. America: The Saybrook Press, Inc., Old Saybrook, Connecticut.
- Hadisoesilo S. 1997. *A comparative study of two spesies of cavity-nesting honey bees of Sulawesi, Indonesia*. **[Dissertation]** The University of Guelph, Canada.
- _____ 2001. *Keanekaragaman Spesies Lebah Madu Asli Indonesia*. **Biodiversitas** Volume 2 No. 1. Hal. 123-128.
- Hadisoesilo S, Raffiudin R, Susanti W, Atmowidi T, Hepburn C, Radloff SE, Fuchs S and Hepburn R. 2007. Morphometric analysis and biogeography of *Apis koschevnikovi* Enderlein (1906). **Apidologie** 39 (2008) DOI: 10.1051/apido:2008029
- Hamdan K. 2009. *The life cycle of a bee*. Apeldoorn, The Netherlands.
- Hassanein NMA and Hegab Am. 2010. *Bee Venom – Lead Acetate Toxicity Interaction*. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences** 4 (8) : 2206-2221.)
- Heldt and Heldt. 2005. *Plant biochemistry*. Elsevier, London.
- Huha Eun J, Hyeon Baekb Y, Hoo Leec, M, Young Choic, D, Suk Parkb D and Doong Leec, J. 2010. *Bee venom inhibits tumor angiogenesis and metastasis by inhibiting tyrosine phosphorylation of VEGFR-2 in LLC-tumor-bearing mice*. **Cancer Letters** Vol. 292, Issue 1, Pages 98-110.
- Irobi ON Mon-Young, Anderson WA (1996). Antimicrobial activity of Annatto (*Bixa orellana* extract). **Int. J.**

Pharm. 34: 87-90.

- Ken T, Fuchs S, Koenginer N, and Ruiguang Z. 2003. Morphological characterization of *Apis cerana* in the Yunnan Province of China. ***Apidologie*** 34. (2003). 553-561.
- Kim Te S, Hwang JY, Sung Suk M, Je Yang. S. bae Rok D. Mi Han S and Lee Hae S. 2009. The minimum inhibitory concentration (MIC) of bee venom against bacteria isolated from Pigs and Chickens. ***Korean J. Vet. Serv.*** 29(1) : 19-26.
- Klotz SA, Gaur NK, Rauceo J, Lake DF, Park Y, Hahm KS and Lipke PN. 2007. *Inhibition of adherence and killing of Candida albicans with a 23-Mer peptide (Fn/23) with dual antifungal properties.* ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*** 2004 Nov;48(11):4337-41. **PMID** 15504862.
- Lazarev VN, Shkarupeta MM, Titova GA, Kostrjukova ES, Akopian TA, and Govorun VM. 2005. *Effect of induced expression of an antimicrobial peptide melittin on Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis infections in vivo.* ***Biochemical and Biophysical Research Communications.*** Dec 16;338(2):946-50.
- Lazarev VN, Stipkovits L, Biro J, Miklodi D, Shkarupeta MM, Titova GA, Akopian and TA, Govorun VM. 2004. *Induced expression of the antimicrobial peptide melittin inhibits experimental infection by Mycoplasma gallisepticum in chickens.* ***Microbes and Infection.*** May;6(6):536-41.
- Lazarev VN, Parfenova TM, Gularyan SK, Misyurina OY, Akopian TA and Govorun VM. 2002. *Induced expression of melittin, an antimicrobial peptide, inhibits infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis in a HeLa cell line.* ***International Journal of Antimicrobial Agents.*** Feb;19(2):133-7.
- Murakami M, Nakatani Y, Atsumi GI, Inoue K, and Kudo I. 1997. *Regulatory functions of phospholipase A2.* ***Crit Rev Immunol*** 17: 225-283.
- Maria E. 1981. *Beekeeping and Honey Compositions at*

- Several Beestands in East Java (A Case Study). *Journal of Agrivita* 4:27-29.
- Mokosuli YS. 2008. Aktivitas antioksidasi dan antikanker ekstrak kulit batang Langsat (*Lansium domesticum* L.). [Tesis]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Mokosuli YS dan Worang RL. 2009. Pengantar Praktikum Mikrobiologi. FMIPA Universitas Negeri Manado.
- Morse RA. 1975. *Bees and Beekeeping*. New York: Cornell University Press.
- Morse RA and Hooper T. 1985. *The Illustrated Encyclopedia of Beekeeping*. England: Blanford Press
- NCBI, 2010. *Melitten-Compound Summary*, Pub Chem. <http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> [di akses 7 april April 2011]
- Oren Z and Shai Y. 1997. *Selective lysis of bacteria but not mammalian cells by diastereomers of melittin: Structure-function study*. *Biochemistry* 1997; 36: 1826-1835.
- Otis, G.W., 1991. *Revised distribution of three recently recognized spesies of honey bees in Asia*. *Honeybee Science* 15:167-170.
- Palmer K, Oldroyd B, Franck P and Hadisoesilo S. 2001. Very high paternity frequency in *Apis nigrocincta*. *Insectes soc.* 48:327-332
- Perez, GA. 2007. *Generation Of An Integrated Karyotype Of The Honey Bee (Apis mellifera L.) By Banding Pattern And Fluorescent In Situ Hybridization*. [Dissertation]. Texas A&M University.
- Pusat Perlebahan Apiari Pramuka. 2007. *Lebah Madu Cara Beternak dan Pemanfaatan*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Puradidjaja YO and Muntasib EKSH. 1989. *Kehidupan dan keanekaragaman joenis lebah di hutan pendidikan gunung Walat*. *Media Konservasi* Vol. II (4) Des. 9-13.
- Raffiudin R, Sosromarsono S, Ratna SS dan Solihin DD. 1999. *Keragaman morfologi Apis cerana [Hymenoptera: Apidae] di Jawa Barat*. *Buletin hama dan penyakit tumbuhan*, 11 (1) : 20-25.

- Raffiudin R. 2002. *Honey bee behavioural evolution and itpr gene structure studies*. [PhD Thesis]. James Cook University <http://eprints.jcu.edu.au/1249>.
- Rahimi A and Asadi M. 2010. Morphological characteristic *Apis mellifera meda* (Hymenoptera : Apidae) in Saghez (West of Iran). ***Natura Montenegrina*** 10 (2) : 101-107.
- Russel AD, Fur JR (1997). Antibacteria activity of a new chloroxyleneol preparation containing ethylenediamine tetra acetic acid. ***J. Appl.Bacteriol*** 43: 253-260.
- Smith, D.R. and R.H. Hagen, 1996. *The biogeography of Apis cerana as revealed by mitochondrial DNA sequence data*. ***J. Kansas Entomol. Soc.*** 4: 294–310.
- Shuel, R.W. 1951. Some faktors affecting nektar secretion in red clovers. *Plant Physiol.* 27: 95-110.
- Sihombing DTH. 1997. Ilmu Ternak Lebah madu. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Somanathan H, Warran EJ, Borges RM and Kelber A. 2009. Resolution and sensitivity of the eyes of the Asian honeybees *Apis florea*, *Apis cerana* and *Apis dorsata*. ***The Journal of Experimental Biology*** 212, 2448-2453
- Stone D. 2005. *An introduction to bee biology*. University Laboratory High School. [Http://www.beespace.uiuc.edu](http://www.beespace.uiuc.edu) [april 2011]
- Surendra NS, Jarayam GN and Reddy MS. 2011. *Antimicrobial activity of crude venom extracts in honeybees (Apis cerana, Apis dorsata, Apis florea) tested against selected pathogens*. ***African Journal of Microbiology Research***. Vol. 5 (18) pp 2765-2772.
- Suwannapong G, Noiphrom, J. and Benbow ME. 2012. Ultramorphology Of Antennal Sensilla In Thai Single Open Nest Honeybees (Hymenoptera: Apidae). ***The Journal of Tropical Asian Entomology*** (2012) 01:1-12
- Wan IP S, Wei Chuan H, Lin Pin J, Kuo Man H, Liu Ching K, Hsu Chun S, Yang Sing J, Yang Due M, Chiu Hung T, Han Mi, S and Chung Gung J. 2008. *Bee Venom Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Cervical*

Epidermoid Carcinoma Ca Ski Cells. Anticancer Research March-April 2008 vol. 28 no. 2A 833-842

Warrant, E. J., Kelber, A., Wallén, R. and Wcislo, W. T. 2006. Ocellar optics in diurnal and nocturnal bees and wasps. *Arthropod. Struct. Dev.* **35**, 293-305.

Bab 2

Potensi Farmakologis Bioaktif dari Lebah Madu

Potensi Farmakologis Bioaktif dari Lebah Madu

2.1. . Sifat antimikrobia

Aksi antimikroba terdiri antibakteri, antijamur, tindakan antiviral. Sifat-sifat tersebut sangatlah penting untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh mikroba. Semua produk lebah memiliki sifat antimicrobial, antimikroba yang paling utama dari produk lebah adalah Bee Venom, madu dan propolis.

a. Madu:

Efek antibakteri madu, terutama terhadap bakteri gram positif, baik efek bakteriostatik dan bakterisida telah teruji dalam berbagai kondisi, banyak diantaranya terhadap bakteri patogen. *Glukosa oksidase* yang terdapat dalam madu menghasilkan hidrogen peroksida sebagai zat antibakteri, sedangkan enzim lainnya, *katalase* menghancurkan bakteri. Madu dengan aktivitas *katalase* tinggi memiliki aktivitas antibakteri peroksida rendah. Aktivitas anti bakteri yang dimiliki Madu terdiri dari yang bersifat *peroksida* dan *non peroksida*, zat antibakteri yang bersifat non-peroksida seperti : asam, basa atau netral (Bogdanov, 1997). Efek antimikroba tiap jenis madu berbeda karena zat yang terkandungnya berbeda, misalnya kandungan asam aromatik (Russell et al, 1988.) dan senyawa dengan sifat kimia yang berbeda (Dustmann, 1978; Dustmann, 1979; Bogdanov, 1997) dan tergantung pada asal botani madu (Molan, 1992a; Molan, 1992b; Bogdanov, 1997; Molan, 1997).

Konsentrasi gula yang tinggi pada madu (Mundo et al, 2004.), Dan juga rendahnya pH madu (Yatsunami dan Echigo, 1984) juga memberikan aktivitas antibakteri.

Kebanyakan laporan dari penelitian, madu menghentikan pertumbuhan bakteri setelah waktu tertentu. Semakin tinggi konsentrasi madu akan semakin lama periode hambatan pertumbuhan. Penghambatan yang lengkap selama waktu pertumbuhan bakteri akan

mengendalikan infeksi (Molan, 1992b). Madu juga memiliki aktivitas antivirus *Rubella* (Zeina et al., 1996), virus *Herpes* (Al-Waili, 2004). Madu juga memiliki aktifitas *fungisida* terhadap berbagai *dermatofit* (Molan, 1997).

b. Propolis.

Aktivitas antimikroba propolis merupakan properti biologis yang paling penting dari propolis, mengingat banyaknya studi dilakukan. Terlepas dari perbedaan komposisi utama dari jenis propolis berbeda, semua memiliki aktivitas antimikroba yang sama; (Kujumgiev et al, 1999.) (Bankova, 2005 Bankova et al, 2007.). Poplar propolis dikumpulkan oleh *Apis mellifera caucasica* mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dari yang dikumpulkan oleh *Apis mellifera anatolica* dan *Apis mellifera carnica* (Silici dan Kutluca, 2005). Propolis lebih aktif terhadap patogen gram positif (Grange dan Davey, 1990) tetapi banyak bakteri gram negatif juga terhambat. Dengan meningkatnya resistensi antibiotik pada tahun-tahun terakhir, rumah sakit mulai menaruh kepentingan terhadap propolis sebagai agen antibakteri. Propolis memiliki efek sinergis dengan tindakan antibiotik terhadap bakteri (Marcucci, 1995; Stepanovic et al, 2003;. Speciale et al, 2006;. Orsi et al, 2006;. Scazzocchio et al, 2006;. Onlen et al, 2007.).

Efek antibakteri propolis adalah bakterisida, (Grange dan Davey, 1990; Mirzoeva et al, 1997;. Pepeljnjak dan Kosalec, 2004), dengan menghambat mobilitas bakteri (Mirzoeva et al, 1997.). Zat antibakteri propolis: polifenol, flavonoid, ester asam phenethyl caffeic, terpena, minyak esensial dan lignans furfuran.

Poplar propolis dikumpulkan oleh *Apis mellifera caucasica* memiliki aktivitas antijamur yang lebih tinggi dari yang dikumpulkan oleh *Apis mellifera carnica* dan *Apis mellifera anatolica* (Silici et al, 2005.). Di sisi lain sifat antijamur dan antivirus propolis dari botani dan geografis yang berbeda memiliki kesamaan (Kujumgiev et al, 1999.). Propolis membunuh fungi dan juga virus, juga menghambat pertumbuhan (Marcucci, 1995).

c. Pollen

flavonoid Berbeda dengan *Ranunculus sardous* dan *Ulex* Eropa ditandai mempunyai aktivitas antibiotik terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Di sisi lain, *Eucalyptus globulus*, terutama kaya turunan kuersetin, tidak menunjukkan aktivitas antibakteri (Campos et al, 1998.). Dalam studi lain ditemukan bahwa senyawa hidrofobik bee pollen mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus viridans* (Tichy dan Novak, 2000). Bee bread ditemukan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphioccoccus ureus* dan *S. epidermidis* (Baltrusaityte et al, 2007a.). Pollen juga memiliki aktivitas antijamur yang signifikan (Ozcan et al, 2003;. Ozcan, 2004).

Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa RJ memiliki aktivitas *antibakteri* (Langlade et al, 1957;. Yatsunami dan Echigo, 1985; Fujiwara et al, 1990;. Serra Bonvehi dan Escola Jorda, 1991a;. Abd-Alla et al, 1995; Xiao et al , 1996;.. Bachanova et al, 2002), *fungisida* (Sauerwald et al, 1998;. Stocker, 2003), *antivirus* (Derevici dan Petrescu, 1960; Stocker, 2003). RJ menghambat kedua bakteri gram positif dan gram negatif, bakteri patogen. Aktivitas antibakteri ini disebabkan asam 10-Hydroxydeceneoic (Blum et al, 1959;. Serra Bonvehi dan Escola Jorda, 1991b) dan protein dan peptida yang berbeda (Fujiwara et al, 1990;. Xiao et al, 1996;. Stocker, 2003 ; Fontana et al, 2004)..

d. Racun lebah (Bee venom : BV)

BV dilaporkan memiliki aktivitas antibakterial terhadap bakteri, jamur dan virus (Benton dan Mulfinger, 1989; Ludyanskii, 1994; Ammentorp-Schmidt, 1994; Fenard et al, 1999;. Yasin et al, 2000;. Urtubey, 2005).

2.2.. Kandungan sifat Antioksidan

Teori radikal dalam fisiologi manusia mengklaim bahwa radikal bebas aktif terlibat dalam hampir semua proses degradasi selular dan menyebabkan kematian sel. Antioksidan adalah molekul yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi dari molekul lain dan untuk mencegah perubahan tersebut. Stres oksidatif berkontribusi pada pertumbuhan penyakit kronis dan

penyakit degeneratif seperti kanker, gangguan autoimun, penuaan, katarak, rematik, jantung dan penyakit neurodegenerative (Pham-Huy et al, 2008.). Propolis, serbuk sari dan madu memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

a. Propolis:

Propolis adalah antioksidan yang paling kuat dari produk lebah. Efek ini terutama disebabkan oleh tingginya konsentrasi fenolat. Aktivitas antioksidan propolis yang diukur dari ekstrak dalam satuan ORAC adalah 4 kali lebih tinggi daripada vitamin E. Dalam satuan Trilox, 40-50 kali lebih besar daripada buah-buahan hutan dan 25-50 kali lebih besar daripada kopi dan anggur merah (Bendini et al, 2009.). Meskipun kandungan phenolic tampaknya bervariasi sesuai dengan asal botani, efek antioksidan berbagai jenis propolis telah dilaporkan. Dalam studi propolis dengan asal geografis dan botani yang berbeda ditemukan bahwa aktivitas antioksidan berkorelasi baik dengan total konsentrasi *polyphenol* (Kumazawa et al, 2004.).

b. Pollen

Dalam beberapa studi telah dilaporkan adanya hubungan yang erat antara bioaktivitas antioksidan serbuk sari dengan senyawa fenolik (Campos et al, 1994; Campos et al, 2003; Leja et al, 2007; Le Blanca et al, 2009....). Hal ini juga menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan bee pollen adalah spesies (Almaraz-Abarca et al, 2004;. Leja et al, 2007;. Le Blanca et al, 2009;.. Marghitas et al, 2009) dan independen sesuai asal geografisnya (Almaraz-Abarca et al, 2004.). Bee bread (roti lebah) juga ditemukan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Nagai dkk, 2004;. Baltrusaityte et al, 2007b.). Kemampuan menetralkan radikal bebas akan menurun dengan penyimpanan bee pollen kering pada suhu kamar dan bisa kehilangan 50% kekuatan antioksidannya dalam 1 tahun (Campos et al, 2003.).

c. Madu dan Racun

Madu mengandung senyawa antioksidan yang signifikan, tetapi dalam konsentrasi yang lebih rendah : *glukosa oksidase, katalase, asam askorbat, flavonoid, asam fenolat, turunan karotenoid*, asam organik, produk reaksi Maillard, asam amino, protein. Mengonsumsi madu memberikan efek antioksidan yang lebih tinggi di dalam darah dibandingkan dengan asupan teh hitam, walaupun efek *in vitro* yang diukur dalam satuan ORAC lima kali lebih kecil dibandingkan teh hitam (Gheldof et al, 2003.). Umumnya, madu yang lebih gelap, kandungan fenolik dan kekuatan antioksidannya semakin tinggi. Perlu diingat bahwa aktivitas antioksidan tergantung pada botani asal dari madu dan variasi madu dari sumber yang berbeda. Aktifitas Antioksidan BV dan RJ juga telah dilaporkan (Münstedt dan Bogdanov, 2009).

2.3. Efek Anti-inflamasi

Peradangan adalah respons biologis kompleks jaringan pembuluh darah terhadap rangsangan berbahaya, seperti patogen, sel yang rusak, iritasi dan radikal bebas. Peradangan pada bagian-bagian tertentu dari tubuh manusia diperkirakan menjadi penyebab utama kanker, jantung, arthritis dan penyakit kronis lainnya. Dengan demikian, aktivitas anti-inflamasi diperkirakan untuk melawan perkembangan penyakit kronis. Semua produk lebah memiliki sifat anti-inflamasi.

Produk anti-peradangan yang paling kuat adalah BV, sudah tidak diragukan lagi. komponen yang berbeda seperti melittin, sel mast degranulating-peptida, apamine dan adolapine adalah molekul anti-peradangan yang kuat (Shkenderov dan Ivanov, 1983; Putra et al, 2007.).

Sifat anti-inflamasi madu juga bisa dipertimbangkan. efek Anti-inflamasi madu dalam plasma manusia diukur oleh Al Waili dan Boni (Al-Waili dan Boni, 2003) setelah mengonsumsi 70 g madu. Konsumsi madu memiliki dampak positif dalam model eksperimental penyakit inflamasi usus pada tikus (Bilsel et al, 2002.). Pengurangan peradangan bisa disebabkan efek antibakteri madu atau efek antiinflamasi langsung.

Semua jenis propolis diperiksa memiliki aktivitas anti-inflamasi, yang disebabkan oleh senyawa anti

inflamasi yang berbeda seperti *polyphenol*, *flavonoid*, *benzophenonespolyprenylated* dan Artipellin C. Aktivitas Anti-inflamasi telah dilaporkan juga dimiliki oleh serbuk sari (Choi, 2007) dan RJ (Kohno et al, 2004).

2.4. Imunomodulasi dan efek antitumor

Tumor ganas dihubungkan dengan penurunan fungsi kekebalan tubuh. Stimulasi hasil makrofag dalam membunuh sel kanker. Jadi immunomoduling aktivitas sering dikaitkan dengan tindakan antikanker. Semua produk lebah memiliki efek imunomodulasi dan antitumor. Madu: merangsang T-limfosit dalam kultur sel untuk berkembang biak, dan mengaktifkan neutrofil (Abuharfeil et al, 2008.). Hal ini ditunjukkan dalam sebuah studi pada manusia bahwa madu menyebabkan peningkatan monosit, limfosit dan persentase serum eosinofil (Al-Waili, 2003). Madu meningkatkan proliferasi B-limfosit, T-limfosit dan neutrofil *in vitro* (Abuharfeil et al, 2008.). Dalam studi lain pada tikus, ransum madu menyebabkan peningkatan limfosit dibandingkan dengan control dengan ransum sukrosa (Chepulis, 2007).

Efek antitumor dari Madu juga baru-baru ini sudah ditinjau (Orsolich, 2009). Efek antimetastatic yang signifikan dari madu telah ditunjukkan oleh methylcholanthrene- dalam induksi fibrosarcoma dari mouse CBA dan dalam anaplastik adenocarcinoma kolon tikus Y59 (Orsolich dan Dasar, 2004). Efek antimetastatic diamati ketika madu diberikan sebelum inokulasi sel tumor (peroral 2 g kg-1 untuk tikus atau 1 g kg-1 untuk tikus, sekali sehari selama 10 hari berturut-turut) (Orsolich et al, 2003.). Jagathan dan Mandal menunjukkan efek anti-proliferasi pada sel kanker usus besar (Jaganathan dan Mandal, 2009).

Konsumsi madu oleh tikus yang diinduksi antitumor dan menunjukkan efek antimetastatic (Gribel dan Pashinskii, 1990). Dalam studi lain efek antitumor madu melawan kanker kandung kemih telah didemonstrasikan *in vitro* dan *in vivo* pada tikus (Swellam dkk, 2003.).

Ekstrak madu Yunani (*thyme*, pinus dan cemara madu) memiliki efek antikanker dan disarankan dengan memperkaya diet madu dapat mencegah proses kanker

payudara, prostat dan sel-sel kanker endometrium (Tsiapara et al, 2009.). Madu hutan, yang dikumpulkan dari pohon bunga oleh lebah madu liar yang hidup di hutan tropis Nigeria) meningkatkan fungsi kekebalan tubuh dan memiliki aktivitas antitumor pada tikus (Fukuda et al., 2009).

a. Propolis

Aktivitas imunomodulasi propolis telah dikaji oleh Sforcin. Uji *In vitro* dan *in vivo* menunjukkan tindakan modulatory propolis pada makrofag murine peritoneal, meningkatkan aktivitas microbicial makrofag. Propolis memiliki tindakan stimulan pada aktifitas lytic Natural Killer Cell (NK Cell) terhadap sel tumor dan dalam produksi antibodi. Efek penghambatan Propolis pada lymphoproliferation mungkin terkait dengan sifat anti-inflamasi. Dalam uji imunologi, hasil terbaik yang diamati ketika propolis diberikan selama jangka pendek untuk binatang (Sforcin, 2007).

Orsolic meninjau efek antitumor dan efek imunostimulan propolis, mengingat penghambatan pertumbuhan tumor oleh propolis lebah madu dan senyawa polifenol lainnya, sebagaimana mekanisme berdasarkan penelitian *in vivo* dan *in vitro*. Temuan menunjukkan bahwa propolis dan komponennya polifenolik / flavonoid dapat berfungsi sebagai komponen tambahan yang ampuh untuk kemoterapi dan radioterapi dalam pengobatan kanker. Meskipun banyak polifenol memiliki aktivitas anti-metastasis, asam caffeic phenethyl ester (CAPE) dari propolis poplar dan Artipillin C dari propolis *Baccharis* telah diidentifikasi sebagai zat antitumor paling ampuh (Orsolic, 2009).

b. BV

Sifat immunoactivating dan aktifitas antikanker **Bee Venom** (racun lebah) telah diteliti (Krylov, 1995; Putra et al, 2007.). telah dilaporkan memberikan efek antitumor pada ovarium, hepatoma, prostat, kandung kemih, melanoma dan kanker sel ginjal dengan mekanisme yang berbeda dari tindakan tergantung pada jenis tumor.

c. Royal jelly:

Sifat Immunoactivating **RJ** telah dilaporkan dalam studi yang berbeda (Wu et al, 1991; Watanabe et al, 1996; Sver et al, 1996a; Sver et al, 1996b; Krilov dan Sokolskii C., 2000;.... Vucevic et al, 2007) efek Anti-tumor dalam kultur sel dan hewan percobaan pada saat mengkonsumsi atau mendapatkan suntikan royal jelly, juga telah dilaporkan (Diomede-Fresa et al, 1966;.. Tamura et al, 1987;.. Orsolich et al, 2005; Bincoletto et al, 2005;.. Nakaya et al, 2007; Orsolich et al, 2007b)..

2.5. Aktivitas Hepatoprotektif dan aktivitas anti-radiasi

Aktivitas *hepatoprotektif* dan *antiradiation* sering berkorelasi erat. Aktivitas Hepatoprotektif serbuk sari ditemukan pada tikus (Uzbekova et al., 2003), serta penurunan spesifik carbaryl (Eraslan et al, 2008a.) Dan pestisida (Eraslan et al, 2008b) intoksikasi diinduksi kepada tikus.

a. Propolis

(Banskota et al, 2001.) Propolis dan RJ (Krilov dan Sokolskii C., 2000) menunjukkan efek hepatoprotektif pada hewan percobaan.

Aktivitas Antiradiasi ditunjukkan oleh propolis (El-Ghazaly dan Khayyal, 1995; Takagi et al, 2005; Orsolich et al, 2007a;.. Benkovic et al, 2008.), oleh Royal Jelly (Giordano et al, 1959;.. PEJCEV et al , 1965;.. Wagner et al, 1970) dan Bee Pollen (Ananeva dan Dvoretzkii, 1999).

2.6. Pengaruh Biologis Khusus Dari Produk Lebah

a. Royal Jelly

RJ memiliki banyak efek biologis tertentu dalam hewan percobaan. Yang paling khusus adalah: - efek Bio-stimulasi: anti-hipoksia, efek anti-kelelahan, meningkatkan pertumbuhan, berat badan dan konsumsi oksigen (Chauvin, 1968), (Krilov dan Sokolskii C., 2000) - - berbagai efek tersebut terjadi pada sistem saraf pusat dan perifer (Krilov dan Sokolskii C., 2000; Hattori et al, 2007a; Hattori et al, 2007b; Hattori et al, 2007c...).

RJ Selain memiliki sifat anti-hypertensive, hipotensive, efek vasodilatative (Shinoda et al, 1978; Kuzina, 1987; Tokunaga et al, 2003; Tokunaga et al, 2004a; Tokunaga et al, 2004b;. Maruyama et al, 2005.), juga efek anti aterosklerosis (Cho, 1977; Shen et al, 1995;. Ragab dan Ibrahim, 1999; Krilov dan Sokolskii C., 2000).

b. BV

Umumnya memberikan efek spesifik pada sistem saraf pusat dan perifer: stimulasi berbagai perangkat chemoreceptors, tindakan cholinolytic, penyumbatan transmisi sinaps vegetatif dan jalur neuronal polysynaptic, bekerja seperti aspirin, menenangkan sakit, mempengaruhi otak dan EEG pola perilaku binatang, penghambatan pola refleks penyesuaian dan meningkatkan sirkulasi darah otak.

c. Madu:

Telah terbukti memiliki efek prebiotik, yaitu konsumsi yang merangsang pertumbuhan Bifidus spesifik yang sehat dan bakteri Lactobacillus dalam usus. Madu Sour-wood, alfalfa, sage dan semanggi telah terbukti memiliki aktivitas prebiotik (Shin dan Ustunol, 2005). Kegiatan prebiotik madu kastanye lebih besar daripada madu akasia (Lukas et al, 2009.). Oligosakarida dari madu melon memiliki aktivitas prebiotik (Sanz dkk, 2005.). Secara teoritis madu melon, mengandung oligosakarida lebih harus memiliki aktivitas prebiotik lebih kuat dari madu bunga lainnya.

d. Pollen

Efek probiotik pollen segar (serbuk sari beku dalam) tetapi tidak untuk pollen kering telah diumumkan (Percie du Sert, 2009). Bakteri laktat probiotik tidak layak dalam Pollen kering. Dalam percobaan pada tikus menunjukkan bahwa konsumsi serbuk sari meningkatkan pencernaan makanan, merangsang pertumbuhan dan berat badan (Chauvin, 1968; Chauvin, 1987).

Sifat fungsional produk lebah

Produk Fungsional dan sifat biologi produk lebah

- ✓ **Madu:** antibakteri, antijamur, antivirus antioksidan, prebiotik, antiinflamasi, anti kanker, prebiotik
- ✓ **Pollen** antibakteri, antijamur, antioksidan, immunomodulating, radioprotective, hepatoprotektif
- ✓ **Royal jelly** antibakteri, antijamur, antioksidan antivirus, biostimulating, imunomodulasi, radioprotective, anticarcinogenic
- ✓ **Propolis** antibakteri, antijamur, antioksidan antivirus, antiparasit, imunomodulasi, antiinflamasi, analgesik, hepatoprotektif, anticarcinogenic
- ✓ **Bee Venom** antibakteri, antiinflamasi, immunoactivating, immunosuppressive, analgesik, radioprotective, anticarcinogenic

KESIMPULAN

Sifat biologis dan fungsional ditinjau dari produk lebah umumnya terkait dengan penggunaan mereka yang paling sering, tetapi juga potensi dalam pengobatan:

1. Madu: untuk perawatan luka dan gastroenterologi
2. Propolis dalam Stomatology, odontologi dan gastroenterologi, terhadap lesi kulit, otorhinolaryngologic dan penyakit pernafasan
3. Pollen terhadap prostatitis, demam jerami dan dalam gastroenterologi
4. Royal jelly: dalam geriatry, peditry dan penyakit jantung dan sirkulasi darah,
5. Bee Venom terhadap arthritis dan penyakit lainnya dari sistem saraf seperti multiple sclerosis, Parkinson, Alzheimer dan radang sistem saraf perifer dan pusat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. 76(1), 55-61.
- Bankova, V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM*;2(1), 29-32. doi:10.1093/ecam/neh059

- Banskota, A. H., Tezuka, Y., Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research*; 15, 561-71.
- Barrientos, L., Herrera, C. L., Montenegro, G., Ortega, X., Veloz, J., Alvear, M., Cuevas, A., Saavedra, N., & Salazar, L.A. (2013). Chemical and botanical characterization of Chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Brazilian Journal of Microbiology* 44(2), 577-585. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822013000200038>.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food Chemical Toxicology*; 36: 347-63.
- BPOM R. I. (Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia). (2018). Peraturan badan pengawas obat dan makanan republik indonesia tentang kriteria dan tata laksana registrasi obat tradisional. <http://jdih.pom.go.id/rancanganpublikshowpdf.php?u>.
- Choi, S. J., Shimomura, K., Kumazawa, S., & Ahn, M. R. (2013). Antioxidant Properties and Phenolic Composition of Propolis from Diverse Geographic Regions in Korea. *Food Science and Technology Research*, 19 (2), 211-222. <https://doi.org/10.3136/fstr.19.211>
- Chuu, C. P., Lin H. P., Ciaccio, M. F., Kokontis J. M., Hause R. J., Hiipakka R. A., Liao, S., & Jones R. B. (2012). Caffeic Acid Phenethyl Ester Suppresses the Proliferation of Human Prostate Cancer Cells through Inhibition of p70S6K and Akt Signaling Networks. *Cancer Prevention Research*; 5 (5): 788 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0004-T.
- Coneac, G., Gatifanu, E., Hadaruga, D. I., Hadaruga, N. G., Pinzaru, I. A., & Bandur, G. (2008). Flavonoid Content of Propolis from the West Side of Romania and Correlation with the Antioxidant Activity. *Chemical Bulletin Politechnic*;53(67):56-60.
- De Oliveira, B. H., Nakashima, T., De Souza Filho, J. D., &

- Frehse, F. L. (2001). HPLC Analysis of Flavonoids in *Eupatorium littorale*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(2), 243–246. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532001000200019>
- De Vecchi, E., & Drago L. (2007). Propolis antimicrobial activity: what's new? *Le Infezioni in Medicina*; 15: 7-15.
- Daleprane, J. B., & Abdall, D. S. (2013). Emerging Roles of Propolis: Antioxidant, Cardioprotective, and Antiangiogenic Actions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2013, Article ID 175135, 8 pages (1-8) <http://dx.doi.org/10.1155/2013/175135>
- Farooqui, T., and Farooqui, A. A. (2010). Molecular Mechanism Underlying the Therapeutic Activities of Propolis: A Critical Review. *Current Nutrition & Food Science*, pp. 1-15, Vol. 6, No. 3.
- Faraouq, (2003). Ekstrak sebagai salah satu pengembangan bentuk obat tradisional. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII*, Jakarta. 45-52
- Hadisoesilo, S. (2001). Review : Keanekaragaman Spesies Lebah Madu Asli Indonesia. *Biodiversitas* 2, 123–128.
- Hadisoesilo, S., Raffiudin, R., Susanti, W., Atmowidi, T., Hepburn C, Radloff S. E., Fuchs S., & Hepburn R. (2007). Morphometric analysis and biogeography of *Apis koschevnikovi* Enderlein (1906). *Apidologie* 39 DOI: 10.1051/apido:2008029
- Hamasaka, T., Kumazawa, S., Fujimoto, T., & Nakayami, T. (2004). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Japan. *Food Science and Technology Research*; 10: 86-92.
- Harborne, J. B. (2008). Metode Fitokimia, penuntun dan cara modern menganalisis tumbuhan. Penerjemah : Padmawinata K dan Soediro I. Penerbit ITB Bandung
- Hattenschwiller, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends Ecology Evolution*. Jun;15(6):238-243.
- Inggrid, M., & Santoso, H. (2014). Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia*

- deliciosa). *Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, III(3), 43.
- Kikuzaki, H., & Nakatani, N. (1993). Antioxidant effects of some ginger constituents. *Journal of Food Science* 58:1407-10.
- Kumar, N., Mueen-Ahmed, K. K., Dang, R., Shivananda, T. N., Das, K. (2009). GC-MS analysis of propolis of Indian origin. *Journal of Young Pharmacists* 1: 46-48 doi:10.4103/0975-1483.51876.
- Lenny, S. (2006). Isolasi dan uji bioaktivitas kandungan kimia utama puding merah dengan metode uji brine shrimp. USU Repository, Medan.
- Meskin, M. S., Bidlack W. R., Davies, A. J., & Omaye S. T. (2002). *Phytochemicals in Nutrition and Health*. CRC Press, London, New York.
- Molan, P. (2001). Why honey is effective as a medicine. Part 2. The scientific explanation of its effects. *Bee World* 1; 82: 22-40.
- Mokosuli, Y. S. (2008). Aktivitas antioksidasi dan antikanker ekstrak kulit batang Langsung (*Lansium domesticum L.*). (Tesis). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Mokosuli, Y. S. (2013). Karakter Morfologi, Sumber Pakan, Dan Bioaktivitas Farmakologis Racun Lebah Madu Endemik Sulawesi *Apis dorsata* Binghami DAN *Apis nigrocincta* Smith (HYMENOPTERA : APIDAE). (Disertasi). Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mokosuli, Y. S. & Repi, R. A. (2015). The Characteristics Of Bioactive Peptides And Antibacterial activity of honey bee (*Apis nigrocincta*) smith venom, endemic to sulawesi. *Molekul*, Vol. 10. No. 2. November: 135 - 144
- Marcucci, M. C., & Bankova, V. (1999). Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Curr Top Phytochem*; 2: 115-123.
- Mardawati, F., Filianty, & Marta, H. 2008. Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten

- Tasikmalaya. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Padjadjaran.
- Mohammadzadeh, S., Shariatpanahi M., Hamed M., Ahmadkhaniha R., Samadi N., & Ostad S.N. (2007). Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chemistry*; 103: 1097-103.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.006>
- Nazzi, F. (2016). The hexagonal shape of the honeycomb cells depends on the construction behavior of bees. *Sci Rep.* 2016; 6: 28341. Published online 2016 Jun 20. doi: [10.1038/srep28341](https://doi.org/10.1038/srep28341).
- Otis, G.W. (1991). Revised distribution of three recently recognized species of honey bees in Asia. *Honeybee Science* 15:167–170.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, Article ID 1259510, 21 pages <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
- Pérez-Pérez, E. M., Suárez, E., Peña-Vera, M. J., González, A. C., & Vit, P. (2013). Antioxidant activity and microorganisms in nest products of *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 from Mérida, Venezuela. pp. 1-8. In Vit P & Roubik DW, eds. Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela.
- Raffiudin, R. (2002). Honey bee behavioural evolution and itpr gene structure studies. [PhD Thesis]. James Cook University <http://eprints.jcu.edu.au/1249>
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*, 9(2), 196–202. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-7>
- Ra'ed, J. A., Ibrahim, K. N., Rula, M. D., & Mosa, A. (2008). Honey Bee Hive Modification for Propolis Collection. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, Vol 4(2)
- Repi, R. A., Mokosuli, Y.S., Ngangi, J., & Sumampouw, H. M. (2013). Hepatoprotective Activity Combination

- Between *Morinda Citrifolia* Linn (Mengkudu) Extract And Virgin Coconut Oil (VCO). *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. Vol.3, No.13, pp 160-166.
- Rosli, N. L., Roslan, H., Oma, E. A., Mokhtar, N., Hapit, N. H. A., & Asem N. (2016). Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Trigona Apicalis* propolis extract. *AIP Conference Proceedings* 1791, 020018 2016; doi: 10.1063/1.4968873. <https://aip.scitation.org/toc/apc/1791/1?expanded=1791>
- Sannomiya, V. B., Fonseca, M. A. D., & Silva L. (2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 97, no. 1, pp. 1-6,.
- Sawaya, A. C. H. F., Calado, J. C. P., Santos, L. C. D. S., Marcucci, M. C., Akatsu, I. P., & Soares, A. E. E. S., Abdelnur, P. V., Cunha I. B. D. S., and Eberlin M. N. (2009). Composition and antioxidant activity of propolis from three species of *Scaptotrigona* stingless bees. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1 (2): 37 - 42 (2009). DOI 10.3896/IBRA.4.01.2.03
- Saavedra, N., Barrientos, L., Herrera, C. L., Alvear, M., Montenegro G., & Salazar L. A. (2011). **Effect of Chilean propolis on cariogenic bacteria *Lactobacillus fermentum***. *Ciencia Investigacion Agraria*. [online]. vol.38, n.1, pp.117-125. ISSN 0718-1620. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202011000100011>.
- Shalaby, E. A., & Sanaa, M. M. S., (2012). Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 42(5):556-564.
- Seal, T. (2016). Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(2), 157-166. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60225>.

- Suseno, D., (2009). Aktivitas Antibakteri Propolis Trigona spp. Pada Dua Konsentrasi Berbeda Terhadap Cairan Rumen Sapi. <https://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/12572/G09dsu1.pdf?sequence=2>.
- Trusheva, B., Bankova, V., & Trunkova, D., (2007). Different extraction methods of biologically active components from propolis: A preliminary study. *Chemistry Central Journal*, 1:13 doi:10.1186/1752-153X-1-13.
- Veloz, J. J., Saavedra, N., Alvear, M., Zambrano T., Barrientos, L., & Salazar, L. A. (2016). Polyphenol-Rich Extract from Propolis Reduces the Expression and Activity of Streptococcus mutans Glucosyltransferases at Subinhibitory Concentrations. *BioMed Research International* Volume 2016, Article ID 4302706, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4302706>
- Waji, R. A., & Sugrani, A. (2009). Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quertecin). *Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*, 23.

BAB 3

Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Racun Lebah *Apis dorsata* Binghami

Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Racun Lebah *Apis dorsata* Binghami

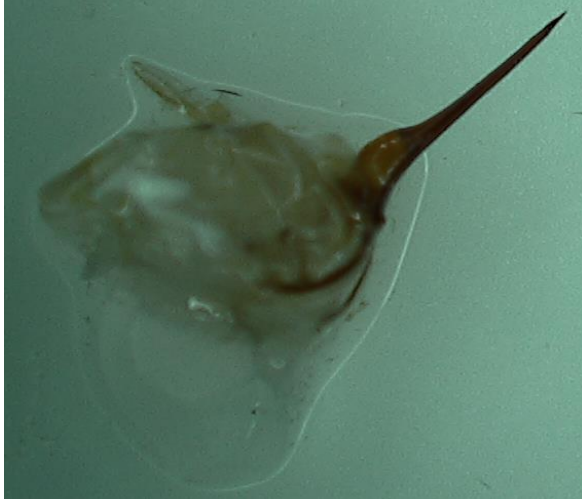
3.1. Potensi Antikanker Racun Lebah Madu

Sebagai racun peptida yang larut dalam air, mellitin yang berasal dari racun lebah madu dilaporkan memiliki efek inhibisi terhadap *karsinoma hepatoseluler* (HCC). Namun, perannya dalam antimetastasis dan mekanismenya masih sulit dijelaskan. Dalam model hewan uji, ditemukan bahwa mellitin terbukti menghambat kelangsungan hidup dan penyebaran sel HCC *in vitro*, yang berkorelasi dengan penekanan aktifitas Rac1, penyebaran sel dan depolimerisasi mikrofilamen. Selanjutnya, mellitin menekan baik metastasis HCC dan aktivitas Rac1-bergantung pada model tikus. Kekhasan pengaruh mellitin pada Rac1 ditegaskan dalam sel HCC baik *in vitro* dan *in vivo* (Lazarev *et. al.*, 2005).

Mellitin juga mempunyai kemampuan menstimulasi sistem organ hipofisis-adrenal untuk memproduksi kortison. Kemampuan mellitin melalui dinding sel merusak sel bermanfaat untuk membunuh sel kanker tanpa mengganggu sel yang sehat. Mellitin dianggap lebih efektif bila dibandingkan dengan konsep "*plants bacteria immunotoxin*" sebagai pilihan untuk pengobatan kanker.

BV telah diketahui dapat menginduksi apoptosis pada banyak jenis kultur sel kanker. BV menginduksi perubahan morfologis dan penurunan persentase sel-sel yang viabel pada kultur sel kanker serviks. Analisis *flow sitometric* menunjukkan bahwa BV menginduksi produksi ROS, meningkatkan kandungan Ca^{2+} sitoplasmik, mereduksi potensial membran mitokondria menyebabkan pelepasan sitokrom dan mempromosi aktivasi caspase-3 yang mengarahkan sel pada apoptosis. BV juga menginduksi peningkatan Fas, p53, p21 dan Bax tetapi menurunkan kandungan BCl-2 (Wan *et. al.*, 2008). Racun

lebah madu secara signifikan menghambat pertumbuhan sel-sel kanker paru-paru. Racun lebah madu juga menghambat *vascular endothelial growth faktor* (VEGF) yang menginduksi proliferasi (Huha, *et. al.*, 2010).



Gambar 12 Sting dan racun lebah *A. dorsata* dari Minahasa (Sumber : foto hasil penelitian oleh penulis)

Sting atau jarum penusuk racun akan menginjeksikan racun berupa cairan berwarna putih bening (Gambar 13). Racun lebah mengandung peptida diantaranya mellitin, tertiapin, apamin, dopamine, MCD-peptide 401 serta adolapin. Racun lebah dapat dianggap potensial sebagai suatu jenis pengobatan yang baru untuk pengobatan hipertensi. Hialuronan dapat ditemukan di beberapa jaringan seperti kulit, kartilago dan humour vitreous sebagai matriks ekstraseluler. Saat ini hialuronan digunakan untuk pengobatan atau biomedical osteoarthritis persendian dan kosmetik untuk melindungi kulit dari paparan sinar UVB. Peranan hialuronidase pada human corneal endothelium yaitu mengatur keseimbangan antara asam hialuronat dan glikosaminoglikan sehingga dapat digunakan pada pengobatan katarak atau sesudah operasi mata (Bogdanov, 2011; Oršolić *et. al.*, 2009).

Peranan farmako-toksikologis racun lebah antara lain miotoksik, agregasi platelet dan neurotoksik prepostsinaptik diketahui karena bagian yang aktif serta bersifat katalitik independen yang dimiliki oleh enzim-enzim tersebut. Hialuronidase juga efektif menghambat gejala pada reumatik diduga karena fungsinya sebagai antikoagulan dan antiinflamasi (Bogdanov, 2011).

Di Indonesia peluang untuk membudidayakan lebah madu sangat besar. *A. nigrocincta* dan *A. dorsata* hidup endemis di Sulawesi, merupakan kedua jenis lebah madu dengan unsur molekul yang berbeda dan beraneka ragam serta memiliki fungsi biokimia yang unik.

Saat ini yang sering digunakan sebagai apiterapi adalah jenis *A. mellifera*. Secara ringkas Bogdanov (2011), menyatakan bahwa terapi BV memiliki multipel efek pada tubuh manusia yaitu : meningkatkan peredaran darah, berpengaruh pada kebugaran, memiliki aktivitas antioksidan, menstimulasi sistem imun alamiah untuk meningkatkan produksi antibodi melawan infeksi dan penyakit, menurunkan kadar kolestrol, meningkatkan hasrat seksual dan berperan dalam kesehatan kulit.

Sifat immunoactivating dan aktifitas antikanker **Bee Venom** (racun lebah) telah diteliti (Krylov, 1995; Putra et al, 2007.). telah dilaporkan memberikan efek antitumor pada ovarium, hepatoma, prostat, kandung kemih, melanoma dan kanker sel ginjal dengan mekanisme yang berbeda dari tindakan tergantung pada jenis tumor.

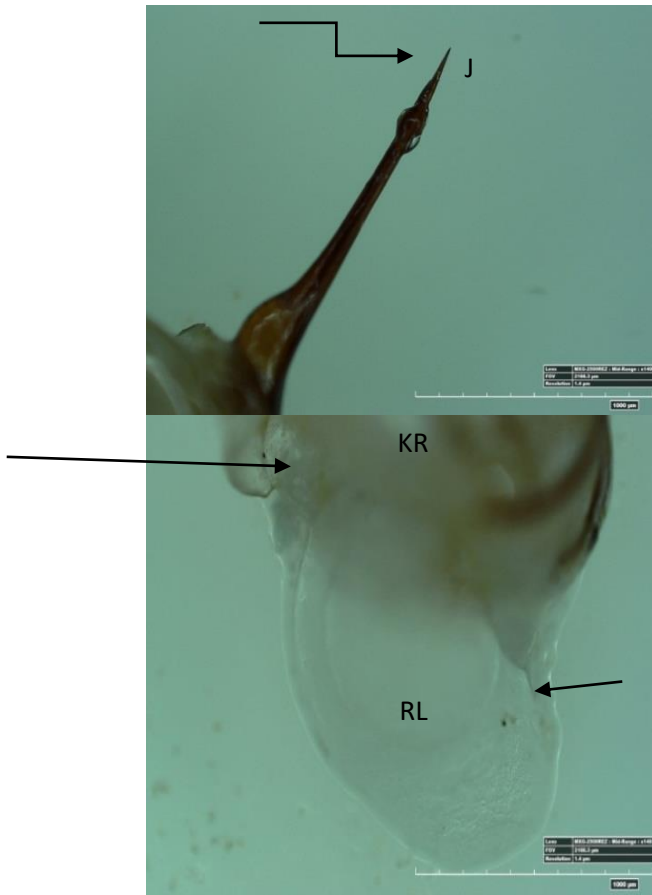
3.2. Karakteristik Racun Lebah Madu *Apis dorsata* Binghami

Karakteristik fisik racun lebah madu segar yang baru diambil dari lebah pekerja berwarna putih bening, tidak berbau, berasa seperti terbakar jika mengenai lidah, pH (4,00 sampai 5,3) (Tabel 1). Sekitar 5 sampai sepuluh menit pada suhu kamar akan berubah menjadi serbuk seperti tepung berwarna putih kekuningan. Jarum penginjeksi racun lebah terdapat pada bagian abdomen atau disebut sting. Sting terdapat pada bagian ujung abdomen. Sting *Apis dorsata* berwarna coklat kehitaman, pada bagian pangkal terdapat kantung racun yang berisi

racun segar (Gambar 2). Isolasi racun dari 100 ekor lebah *A. dorsata* menghasilkan racun lebah kering rata-rata 0,038 gram.

Tabel 1. Karakteristik Racun lebah segar dan kering dari *Apis dorsata* Binghami

Karakteristik	Fresh Bee venom	Kering
pH	4,00 – 5,3	4,6 – 5,8
Bentuk	Cairan semisolid	Tepung / kristal
Warna	Putih bening	Putih kekuningan
Kelaruran	Larut dalam air, etanol dan amonium sulfat	Larut dalam air, etanol dan amonium sulfat
Rasa di lidah	Terbakar	Terbakar dengan intensitas lebih kecil
Analisis Golongan Fitokimia		
- Polifenol	+	+
- Flavonoid	+	+

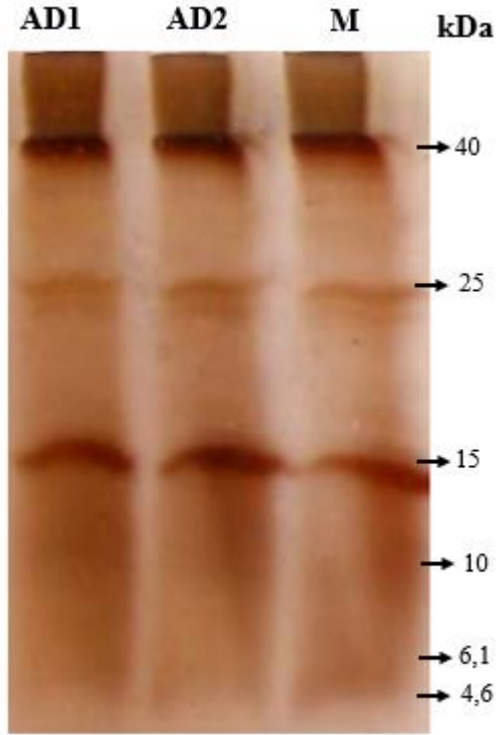


Gambar 13. Racun lebah *A. dorsata* diamati dengan mikroskop HiroxKH-8700. Ket : J= sting/jarum penusuk racun, KR (kantong racun/*venom sach*), RL = racun lebah.

a. Analisis Komponen Racun Lebah Menggunakan SDS-PAGE

Konsentrasi gel poliakrilamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah 17,5%. Hasil analisis SDS-PAGE dari racun *A. dorsata*, terdapat 5 pita yang jelas sedangkan untuk racun *A. nigrocincta* hanya 3 pita yang terdeteksi jelas. Berat molekul pada 5 pita AD1 berturut-turut adalah 33.53 kDa, 21.51 kDa, 10 kDa, 6.1 kDa dan 2.67 kDa. Dilain pihak pada AD2 berurut-turut adalah

33.52 kDa, 31.21 kDa, 21.51 kDa, 10 kDa, 6.1 kDa dan 2.67 kDa (Tabel 2).



Gambar 14. Kromatogram hasil SDS PAGE. Ditemukan 5 pita protein dengan berat molekul berturut-turut : 40 kDa, 25 kDa, 15 kDa, 10 kDa, 6,1 kDa dan 4,6 kDa. Standar Apitoksin (S), marker protein (M), racun *A. dorsata* (BV1), racun *A. nigrocincta* (BV2).

Tabel 2. Berat molekul (kDa) racun lebah madu *A. dorsata* dan *A. nigrocincta*

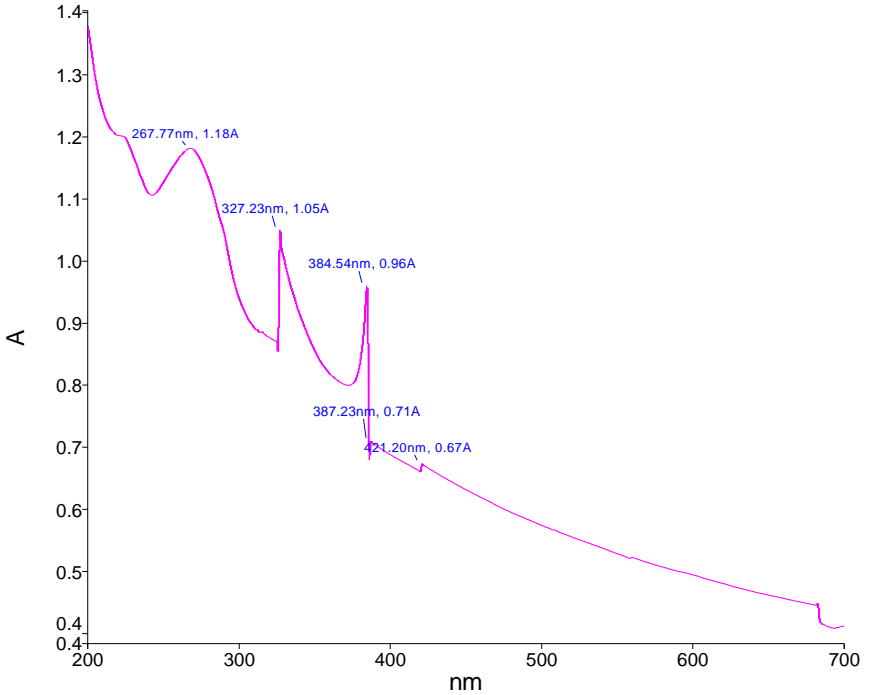
No	Sampel	Berat molekul (BM)					
		Pita 1	Pita 2	Pita 3	Pita 4	Pita 5	Pita 6
1	AD	33.53 Hyaluronidas e/ fosfolipase A	31.21 Fosfolipase	21.51 Fosfolipase A atau lysofosfolipase atau antigen 5	10 uk	6,1 Inhibito r proteas e	2,67 Meliti n
2	AD2	33.52 Hyaluronidas e/ fosfolipase A	21.51 Fosfolipase A atau lysofosfolipa se atau antigen 5	14.43 Fosfolipase A	uk	6,14 Inhibito r proteas e	2,43 Meliti n
3	Marker	40	25	15	10	6,1	4.6

Potensi Bioaktif dari *Apis dorsata* Binghami

Keterangan :

AD1 : racun lebah *A. dorsata* Minahasa

AD2 : racun lebah *A. dorsata* Minahasa Utara



Gambar 15. Spektrograf *Crude venom* dari *Apis dorsata* Binghami

2. Aktivitas Peredaman Radikal bebas DPPH

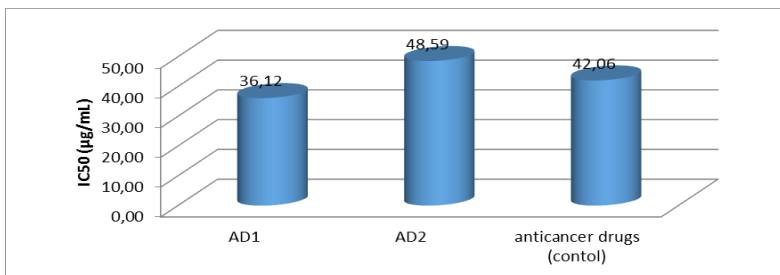
Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH oleh racun lebah segar yang diisolasi dari *Apis dorsata* Binghami pada persarangan alami di Kombi Kabupaten Minahasa (AD2) lebih rendah dibandingkan dengan yang isolasi dari Kaweruan, Minahasa Utara (AD1). Inhibitory concentration 50 AD1 adalah 103,28 ppm ($y = 16,063\ln(x) - 24,492$; $R^2 = 0,9344$) sedangkan pada AD2 IC50 adalah 139,13 ppm ($y = 16,241\ln(x) - 30,151$, $R^2 = 0,8515$) (gambar 2). Dibandingkan dengan kontrol positif yaitu antioksidan sintetik Butil hidroksi toluena (BHT), aktivitas antioksidan racun segar *Apis dorsata* Binghami masih lebih kuat berdasarkan IC50 (Gambar 16).



Gambar 16. Aktivitas peredaman radikal bebas racun lebah Apis dorsata yang berasal dari 2 persarangan alami.

3. Aktivitas antikanker *in vitro*

Racun lebah madu yang digunakan untuk uji toksisitas adalah racun Apis dorsata segar (fresh *crude bee venom*). Hasil uji sitotoksik menunjukkan racun *A. dorsata* memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat. Inhibitroy concentration (IC₅₀) AD1 (36,12 µg/l) sedangkan AD2 (48,59 µg/ml). Dibandingkan dengan kontrol positif yang digunakan aktivitas sitotoksik AD1 lebih kuat (Gambar 17).



Gambar 17. LC₅₀ Racun lebah *A. dorsata* dan *A. nigrocincta* dibandingkan dengan

Kompisis Racun Apis dorsata Binghami

Bee venom has been used in wound healing for centuries. Racun lebah mengandung 88% water, 6% melittin, 6% combination of other enzymes and amino acids, carbohydrates, phospholipids and physiologically

Potensi Bioaktif dari *Apis dorsata* Binghami

active amines. Hasil Analisis golongan fitokimia juga dikatui racun segar Apis dorsata mengandung polifenol dan flavonoid. Analisis SDS PAGE berdasarkan berat molekul peptida, racun segar Apis dorsata Binghami mengandung : Hylauronidase, fosfoliupase, fosfolipase A, inhibitor protease dan melitin. Ada beberapa pita yang belum diketahui jenis peptida.

Melitin dan fosfolipase A adalah komponen penyusun racun lebah madu yang memiliki aktivitas toksisitas yang tinggi, dibandingkan komponen lainnya. Melitin menyusun 30% sampai dengan 50 % berat kering racun *A. mellifera* sedangkan fosfolipase A sekitar 10% sampai 12 %. Hasil SDS PAGE racun segar *A. dorsata* menunjukkan ketebalan band yang tinggi tidak hanya pada melitin dan fosfolipase juga pada inhibitor protease dan hyaluronidase. Ketebalan pita menunjukkan banyaknya konsentrasi senyawa yang terkandung.

Venom from other Apis species is similar, but even the venoms from the various races within each species are slightly different from each other. The toxicity of *Apis cerana* venom has been reported to be twice as high as that of *A. Mellifera* (Ali, 2012).

Aktivitas antioksidan

Mekanisme kerja bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu melalui proses reaksi dengan DPPH*, yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH dan sebagai konsekuensinya penyerapan radikal DPPH* menurun ke bentuk DPPH-H. Derajat diskolorisasi menunjukkan potensi peredaman radikal bebas dari substansi antioksidan atau ekstrak dengan memberikan hidrogen. DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari jingga ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Benabadji *et al.* 2004). Dalam penelitian ini AD1 menunjukkan aktivitas peredaman radikal DPPH terbaik dengan nilai IC₅₀ sebesar 103,28 µg/ml sedangkan AD2 IC₅₀ sebesar 139,13 µg/ml. Penelitian sebelumnya yang dilakukan diketahui aktivitas antioksidan metode asam

tiobarbiturat (TBA) pada konsentrasi 500 ppm racun *Apis nigrocinta* mampu menghambat oksidasi asam linoleat sebesar 75,10 % sedangkan *Apis dorsata* pada konsentrasi 200 ppm telah mampu menghambat oksidasi asam linoleat 80,78 % (Mokosuli et. al. 2013).

Berdasarkan analisis komposisi racun menggunakan SDS PAGE, kandungan peptida yang terdapat pada racun lebah adalah melitin, fosfolipase, Fosfolipase A atau lysofosfolipase atau antigen 5, hyaluronidase dan inhibitor protease. Bee venom was also shown to significantly decrease the level of Radikal Oksigen Species (ROS) induced oxidative damage to synovial fluid proteins in a rat model of rheumatoid arthritis (Frances et. al. 2014). DPPH free radical scavenging activity of the Bee Venom group showed 2.8 times stronger than that of the Sweet Bee Venom group (Chull et. al.2006). The honey bee venom also possesses a considerable hydroxyl radical scavenging activity which was evaluated by its competition with dimethyl sulphoxide for OH \cdot . Honeybee venom is found to inhibit significantly non-enzymatic lipid peroxidation. It also possesses a considerable hydroxyl radical scavenging activity, evaluated by its competition with dimethyl sulfoxide for HO \cdot (Rekka et. al. 1990)

Analisis kandungan golongan fitokimia juga diketahui racun segar *Apis dorsata* Binghami mengandung flavonoid dan polifenol. Golongan polifenol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Bouftira et al. 2007). **Phenolic compounds exhibit a wide range of biological activities and contain one or more aromatic rings bearing one or more hydroxyl groups. They are categorized by the number of phenolic rings and the structural elements that link these rings** (Fresco et. al. 2006; Henshaw et. al. 2014, Samie and Ali. 2012).

Aktivitas Sitotoksik

Melitin bersifat sitotoksik pada sel kanker dengan merusak membrane sel. Racun lebah dapat menghambat pertumbuhan sel tumor (Orsolic et. al., 2009). Melitin dan fosfolipase A dapat meningkatkan sintesis faktor nekrosis

sel tumor, seperti sitokin dan interleukin 1, menstimulasi pelepasan asam arakidonat yang dihasilkan dalam proses respons imun. Racun telah dapat menginduksi apoptosis pada banyak jenis kultur sel kanker, racun lebah menginduksi perubahan morfologis dan penurunan persentase sel-sel yang viabel pada kultur sel kanker serviks. Analisis *flow sitometrik* menunjukkan bahwa racun lebah dapat menginduksi produksi ROS, meningkatkan kandungan Ca^{2+} sitoplasmik, mereduksi potensial membran mitokondria menyebabkan pelepasan sitokrom dan mempromosi aktivasi caspase-3 yang mengarahkan sel pada apoptosis. Racun lebah juga menginduksi peningkatan Fas, p53, p21 dan Bax tetapi menurunkan kandungan BCL-2 (Wan *et. al.*, 2008). Racun lebah secara signifikan menghambat pertumbuhan sel-sel kanker paru-paru. Racun lebah juga menghambat *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang menginduksi proliferasi. (Huha *et. al.*, 2010). Dengan demikian kandungan racun lebah dapat bersifat sitotoksik pada sel kanker murine leukemia P388.

DAFTAR PUSTAKA

- Anendra YC. 2010. *Aktivitas Apis Cerana Mencari Polen, Identifikasi Polen, Dan Kompetisi Menggunakan Sumber Pakan Dengan Apis mellifera*. [Tesis] Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Bakker DR. 1999. *Foraging and habitat selection by two spesies of honey bee near lore Lindu National Park In Sulawesi, Indonesia*. [Thesis] The University of Guelph, Canada.
- Bogdanov S. 2011. *Functional and Biological Properties of the Bee Products: a Review*. www.bee-hexagon.net, Bee Product Science, 1. February 2011
- Boukraa L dan Sulaiman SA. 2009. *Rediscovering the Antibiotics of the Hive. Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2009, 4, 206-213
- Bradbear N. 2009. *Bee and their role in forest livelihoods*. FAO, Roma.

- Cao Fei L, Zheng HQ, Chen X, Niu DF, Hu FL, Hepburn HR. 2012. *Multivariate morphometric analysis of giant honey bee, Apis dorsata F. and apis laboriosa F. in China. Journal of Agriculture Research*, 51 (3) : 245 – 251.
- Chmielewska HR dan Szczêsna T. 2004. *HPLC study of chemical composition of Honeybee (Apis mellifera L.) Venom. Journal of Apicultural Science*. Vol. 48 No. 2 2004
- Engel, M.S. and T.R. Schultz. 1997. *Phylogeny and behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae)*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90: 43-53.
- Free JB. 1982. *Bees and mankind*. George Allen and Unwin (Pub.) Ltd. London, Boston, Sydne.
- Gary NE. 1987. *Activities and Behavior of Honey Bees in the Hive and the Honey Bee*. Hamilton: *The American Bee Journal*.
- Gojmerac WL. 1983. *Bees, Beekeeping, Honey, and Pollination*. America: The Saybrook Press, Inc., Old Saybrook, Connecticut.
- Hadisoesilo S. 1997. *A comparative study of two spesies of cavity-nesting honey bees of Sulawesi, Indonesia. [Dissertation]* The University of Guelph, Canada.
- _____ 2001. *Keanekaragaman Spesies Lebah Madu Asli Indonesia. Biodiversitas Volume 2 No. 1. Hal. 123-128*.
- Hamdan K. 2009. *The life cycle of a bee*. Apeldoorn, The Netherlands.
- Hassanein NMA, Hegab Am. 2010. *Bee Venom – Lead Acetate Toxicity Interaction. Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 4 (8) : 2206-2221.)
- Heldt dan Heldt. 2005. *Plant biochemistry*. Elsevier, London.
- Huha Eun J, Hyeon Baekb Y, Hoo Leec, M, Young Choic, D, Suk Parkb D, Doong Leec, J. 2010. *Bee venom inhibits tumor angiogenesis and metastasis by inhibiting tyrosine phosphorylation of VEGFR-2 in LLC-tumor-bearing mice. Cancer Letters* Vol. 292, Issue 1, Pages 98-110.
- Ken T, Fuchs S, Koenginer N, Ruiguang Z. 2003. *Morphological characterization of Apis cerana in the Yunnan Province of China. Apidologie* 34. (2003). 553-561.

- Kim Te S, Hwang JY, Sung Suk M, Je Yang. S. bae Rok D. Mi Han S dan Lee Hae S. 2009. The minimum inhibitory concentration (MIC) of bee venom against bacteria isolated from Pigs and Chickens. *Korean J. Vet. Serv.* 29(1) : 19-26.
- Klotz SA, Gaur NK, Rauceo J, Lake DF, Park Y, Hahm KS, Lipke PN. 2007. *Inhibition of adherence and killing of Candida albicans with a 23-Mer peptide (Fn/23) with dual antifungal properties.* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2004 Nov;48(11):4337-41. PMID 15504862.
- Lazarev VN, Shkarupeta MM, Titova GA, Kostrjukova ES, Akopian TA, Govorun VM. 2005. *Effect of induced expression of an antimicrobial peptide melittin on Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis infections in vivo.* *Biochemical and Biophysical Research Communications.* Dec 16;338(2):946-50.
- Lazarev VN, Stipkovits L, Biro J, Miklodi D, Shkarupeta MM, Titova GA, Akopian TA, Govorun VM. 2004. *Induced expression of the antimicrobial peptide melittin inhibits experimental infection by Mycoplasma gallisepticum in chickens.* *Microbes and Infection.* May;6(6):536-41.
- Lazarev VN, Parfenova TM, Gularyan SK, Misyurina OY, Akopian TA, Govorun VM. 2002. *Induced expression of melittin, an antimicrobial peptide, inhibits infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis in a HeLa cell line.* *International Journal of Antimicrobial Agents.* Feb;19(2):133-7.
- Murakami M, Nakatani Y, Atsumi GI, Inoue K, Kudo I. 1997. *Regulatory functions of phospholipase A2.* *Crit Rev Immunol* 17: 225-283.
- Maria E. 1981. *Beekeeping and Honey Compositions at Several Beestands in East Java (A Case Study).* *Journal of Agrivita* 4:27-29.
- Morse RA. 1975. *Bees and Beekeeping.* New York: Cornell University Press.
- Morse RA, Hooper T. 1985. *The Illustrated Encyclopedia of Beekeeping.* England: Blanford Press

- NCBI, 2010. *Melitten–Compound Summary*, Pub Chem. <http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> [di akses 7 april April 2011]
- Oren Z, Shai Y. 1997. *Selective lysis of bacteria but not mammalian cells by diastereomers of melittin: Structure-function study*. *Biochemistry* 1997; 36: 1826-1835.
- Otis, G.W., 1991. *Revised distribution of three recently recognized spesies of honey bees in Asia*. *Honeybee Science* 15:167–170.
- Palmer K, Oldroyd B, Franck P, Hadisoesilo S. 2001. Very high paternity frequency in *Apis nigrocincta*. *Insectes soc.* 48:327-332
- Perez, GA. 2007. *Generation Of An Integrated Karyotype Of The Honey Bee (Apis mellifera L.) By Banding Pattern And Fluorescent In Situ Hybridization*. [Dissertation]. Texas A&M University.
- Pusat Perlebahan Apiari Pramuka. 2007. *Lebah Madu Cara Beternak dan Pemanfaatan*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Puradidjaja YO, Muntasib EKSH. 1989. *Kehidupan dan keanekaragaman joenis lebah di hutan pendidikan gunung Walat*. *Media Konservasi* Vol. II (4) Des. 9-13.
- Raffiudin R. 2002. *Honey bee behavioural evolution and itpr gene structure studies*. [PhD Thesis]. James Cook University <http://eprints.jcu.edu.au/1249>
- Sarwono B. 2001. *Lebah Madu*. Jakarta: Agro Media Pustaka
- Smith, D.R. and R.H. Hagen, 1996. *The biogeography of Apis cerana as revealed by mitochondrial DNA sequence data*. *J. Kansas Entomol. Soc.* 4: 294–310.
- Shuel, R.W. 1951. Some faktors affecting nektar secretion in red clovers. *Plant Physiol.* 27: 95-110.
- Sihombing DTH. 1997. *Ilmu Ternak Lebah madu*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Stone D. 2005. *An introduction to bee biology*. University Laboratory High School. <Http://www.beespace.uiuc.edu> [april 2011)
- Wan IP S, Wei Chuan H, Lin Pin J, Kuo Man H, Liu Ching K, Hsu Chun S, Yang Sing J, Yang Due M, Chiu Hung T, Han Mi, S, Chung Gung J. 2008. *Bee Venom Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Cervical*

*Epidermoid Carcinoma Ca Ski Cells. Anticancer
Research March-April 2008 vol. 28 no. 2A 833-842*

BAB 4
Bioaktif dan Aktivitas
Antioksidan Sarang lebah
Apis dorsata Binghami

Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

4.1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan tahap awal untuk mengisolasi senyawa aktif berpotensi obat, dari simplisia tumbuhan atau hewan. Faktor yang paling penting, mempengaruhi hasil ekstraksi yaitu pelarut, waktu, dan suhu dalam melakukan ekstraksi (Yang *et al.* 2007). Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami, diperoleh dari hutan Minahasa, dalam keadaan segar langsung dipreparasi untuk ekstraksi (Gambar 1). Ekstraksi sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70 %, dan n-heksan. Sarang lebah segar diblender, menjadi serbuk, kemudian sebanyak 250 g, serbuk dimaserasi dengan 800 mL etanol 70%, selama 48 jam pada suhu kamar. Pelarut yang terkandung dalam filtrat diupakan menggunakan rotary evaporator, pada suhu 40 ° C, 48-50 rpm, selanjutnya di namakan ekstrak etanol. Residu dimaserasi lagi dengan 800 mL n-heksan selama 2 x 24 jam pada suhu kamar. Hasil maserasi kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat. Pelarut diupakan dengan rotary evaporator pada suhu 40 ° C, 50 rpm. Hasil ekstraksi selanjutnya dinamakan ekstrak n-heksan (Tabel 3). Ekstrak etanol berwarna coklat dengan bau khas sarang lebah, sedangkan ekstrak n-heksan berwarna kuning dengan bau khas sarang lebah (Gambar 18).



Gambar 18. (a). Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dan
(b). Ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

Tabel 3. Rendaman ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

Simplisia	Pelarut	Bobot sampel (g)	Rendemen (%)	Bobot ekstrak (g)	Warna
A1	Etanol 70%	200	7,75	5,32	Coklat
	n-heksan	200	8,45	6,45	Kuning
A2	Etanol 70%	200	8,53	5,45	Coklat
	n-heksan	200	8,91	6,53	Kuning

Metode maserasi paling banyak digunakan, dalam penelitian bahan tumbuhan, sebagai sumber bioaktif untuk obat. Selain metode maserasi, juga sering digunakan metode perkolasi, sokletasi dan destilasi uap. Walaupun

demikian, metode perkolasi hanya baik digunakan pada senyawa organik yang mudah larut, sedangkan sokletasi dan destilasi uap, hanya baik pada senyawa yang tahan panas (Faraouq, 2003; Lenny, 2006; Mokosuli, 2008). Menurut Faraouq (2003), ekstraksi simplisia untuk tujuan obat herbal, terbaik digunakan pelarut etanol. Etanol dapat bercampur dengan air dalam berbagai perbandingan, dan mudah dalam penguapan residunya dalam ekstrak. Pelarut metanol, etilasetat atau heksana tidak diperbolehkan karena residu toksik yang dihasilkan (BPOM, 2018). Trusheva *et al.* (2007), melakukan ekstraksi pada propolis dengan etanol dengan membandingkan beberapa metode ekstraksi yaitu maserasi, UE (*ultrasound extraction*) dan MAE (*microwave assisted extraction*), ternyata metode maserasi menghasilkan persen rendemen total 55,58 % lebih besar dibandingkan metode UE dan MAE dengan masing-masing rendemen yang diperoleh 41 % dan 53%. Persen rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol baik pada A1 maupun A2 oleh karena itu kedua ekstrak tersebut dilanjutkan dalam bioassay aktivitas antioksidasi.

4.2. Analisis Fitokimia

Screening kandungan golongan fitokimia merupakan prosedur standar dalam eksplorasi ekstrak tumbuhan dan atau hewan, untuk tujuan uji aktivitas obat. Analisis fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder, yang terkandung dalam ekstrak sarang lebah. Sarang lebah dibentuk antara lain dari getah tumbuhan yang diambil oleh lebah pekerja. Pada ekstrak etanol A1, teridentifikasi mengandung semua golongan metabolit sekunder yang diuji. Flavonoid, Saponin dan Steroid ditemukan dalam intensitas yang lebih tinggi dibandingkan metabolit sekunder lainnya. Sedangkan ekstrak n-heksan diperoleh kandungan alkaloid dan steroid dalam intensitas yang tinggi. Pada ekstrak etanol A2, diperoleh kandungan alkaloid, flavonoid dan saponin dengan intensitas yang lebih tinggi dibandingkan golongan fitokimia lainnya yang diuji. Ekstrak n-heksan A2, menunjukkan kandungan saponin dan steroid dengan intensitas yang lebih tinggi dibandingkan golongan fitokimia lainnya (Tabel 4).

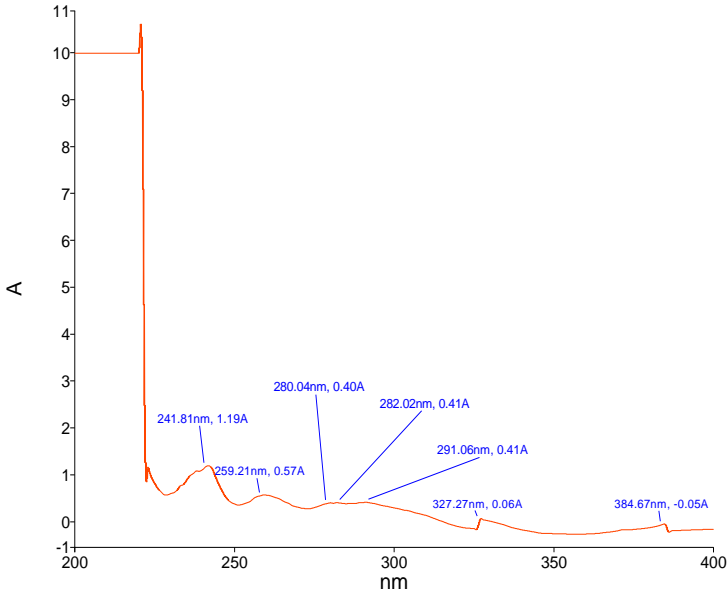
Tabel 4 Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Sarang Lebah
Apis dorsata Binghami

Golongan Senyawa	Hasil Uji			
	A1Et.Oh	A1nh	A2EtOH	A2nh
Alkaloid	+	++	++	+
Flavonoid	++	+	++	+
Saponin	++	+	++	++
Tanin	+	-	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+
Streroid	++	++	+	++

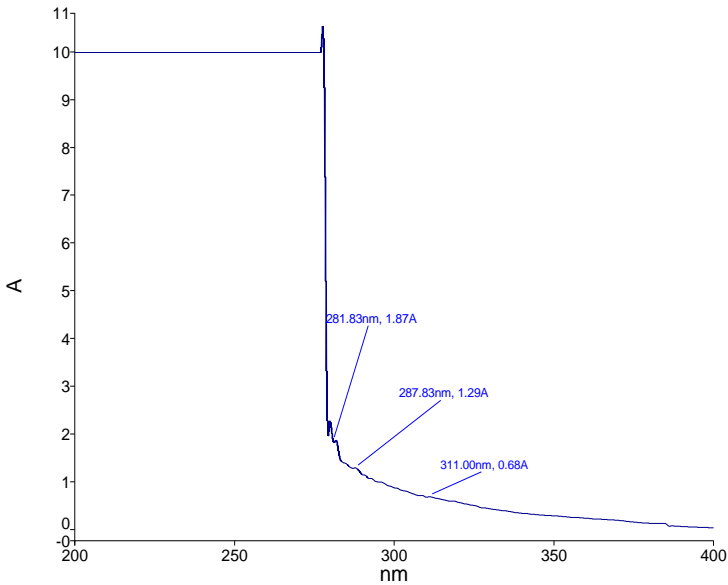
Keterangan :

tanda (+) menunjukkan tingkat intensitas warna dan endapan yang terbentuk, setelah diberikan pareaksi uji. *EtOH* (ekstrak etanol), *nh* (ekstrak n-heksan).

Dalam membentuk sarang, *Apis dorsata* Binghami membutuhkan lebih dari 100 tumbuhan, sumber getah (Hadisoesilo 2003; Raffiundin, 2005). Getah-getah tersebut digunakan dalam membentuk ruang-ruang heksagonal pada sarang lebah, tempat diletakkan telur lebah. Penelitian yang dilakukan sebelumnya, sarang *Apis dorsata* Binghami di Minahasa memiliki karakteristik spesifik (Mokosuli, 2013). Beberapa tumbuhan yang banyak dikunjungi oleh lebah antara lain *Syzygium aromaticum*, *Ficus* sp., *Ficus minahassae*, *Durio zebethinus*, *Lansium minahassae*, *Elemerelia celebica* L, *Mangifera indica*, *Cocos nucifera*, *Garcinia magostana*, *Nephelium lappaceum* dll. Hal ini menguatkan hasil penelitian bahwa sarang lebah *Apis dorsata* Binghami mengandung semua golongan fitokimia. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan fraksinasi. Pelarut etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Adanya gugus ini sehingga senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan terekstrak dalam etanol. Pelarut n-heksan bersifat non polar, hal ini menyebabkan golongan metabolit sekunder yang bersifat non polar dapat ditarik dengan baik.



Gambar 19. Analisis Spektrofotometri UV Vis Ekstrak Etanol Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

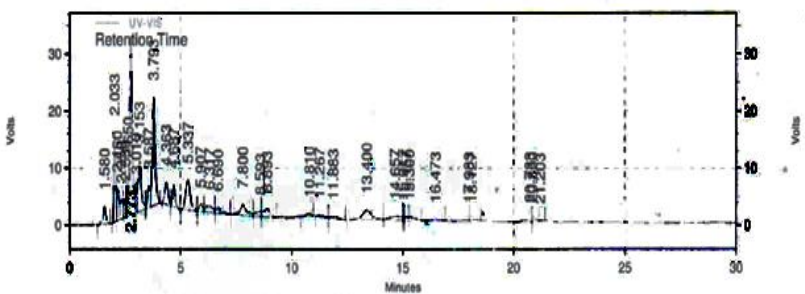


Gambar 20. Analisis Spektrofotometri UV Vis Ekstrak n-heksan Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

4.3. Analisis Flavonoid dengan HPLC

Analisis kandungan senyawa golongan flavonoid dilakukan dengan menggunakan High performance liquid chromatography. HPLC dapat memisahkan golongan senyawa dari campuran dalam ekstrak sarang lebah. Pemisahan senyawa diketahui pada retention time (Seal, 2016). *Retention time* adalah waktu yang dibutuhkan senyawa untuk bergerak, saat pertama kali diinjeksikan ke dalam kromatografi, hingga terukur *peak* maksimumnya (Seal, 2016). Senyawa yang belum diketahui, dapat diamati dengan baik menggunakan sinar UV pada panjang gelombang antara 200 - 220 nm (dekat dengan absorbansi akhir), hal ini disebabkan umumnya senyawa organik memiliki absorbansi pada jarak spektrum tersebut (De Oliveira *et al.*, 2001; Rosli *et al.*, 2016).

Berdasarkan retention, terdapat 35 jenis senyawa aktif pada ekstrak sarang lebah A1. Ditemukan tiga senyawa dengan persentasi di atas 10%. Pertama, kandungan senyawa aktif 23,63% dengan retention time 2,773 menit. Kedua, kandungan senyawa aktif 14,28% dengan retention time 3,793 menit, dan ketiga kandungan senyawa 11,88% dengan retention time 2,003 menit. Standar kuersetin menunjukkan retention time 11,854 (Gambar 21 dan Gambar 22). Kuersetin teridentifikasi pada ekstrak A1 dengan kandungan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak A2.

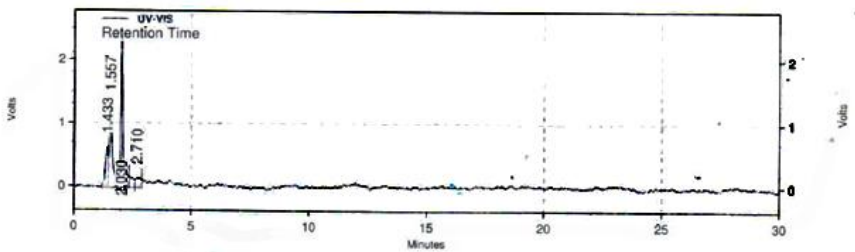


Gambar 21. Retention time ekstrak sarang lebah A1

UV-VIS Results				
Retention Time	Area	Area %	Heigth	Heigth %
1.580	111790	2.24	12152	2.29
2.033	319951	6.42	63113	11.88
2.160	137408	2.76	22272	4.19
2.350	132494	2.66	13665	2.57

2.530	91519	1.48	13768	2.59
2.650	153338	3.08	28984	5.46
2.773	920666	18.47	125550	23.63
3.010	80798	1.62	15293	2.88
3.153	375551	7.53	36147	6.80
3.587	121473	2.44	15063	2.84
3.793	673915	13.52	75838	14.28
4.363	159673	3.20	15135	2.85
4.687	136630	2.74	15020	2.83
5.337	320943	6.44	20957	3.94
5.907	57300	1.15	4851	0.91
6.317	94395	1.89	4208	0.79
6.690	54456	1.09	3691	0.69
7.800	150424	3.02	7021	1.32
8.593	60223	1.21	3396	0.64
8.893	115809	2.32	5344	1.01
10.810	26331	0.53	1346	0.25
11.267	19501	0.39	1061	0.20
11.883	29545	0.59	1266	0.24
13.400	244190	4.90	7183	1.35
14.657	126413	2.54	3214	0.60
15.017	10649	0.21	2699	0.51
15.157	30248	0.61	2777	0.52
15.300	61692	1.24	2775	0.52
16.473	37909	0.76	1135	0.21
17.983	27225	0.55	1165	0.22
18.127	30895	0.62	1218	0.23
20.733	37102	0.74	1547	0.29
20.850	23213	0.47	1576	0.30
21.203	11130	0.22	820	0.15

Gambar 22. Hasil analisis Spektrofotometri UV Vis ekstrak A1 setelah dilakukan analisis dengan HPLC

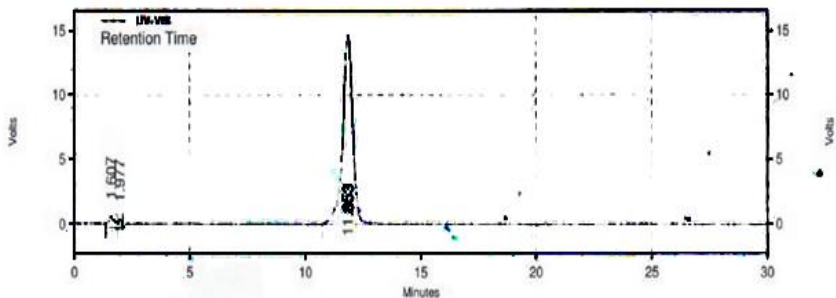


UV-VIS Results				
Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1.443	20835	14.46	2570	13.99
1.557	49079	34.06	5207	28.35
2.030	64071	44.47	9974	54.30

Potensi Bioaktif dari *Apis dorsata* Binghami

2.710	10104	7.01	619	3.37
Total	144089	100.00	18370	100.00

Gambar 23. retention time sarang lebah A1 dan hasil analisis Spektrofotometer UV Vis



UV-VIS
Results

Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1.607	67545	3.67	3419	5.25
1.997	27648	1.50	2902	4.45
11.853	1743535	94.82	58835	90.30

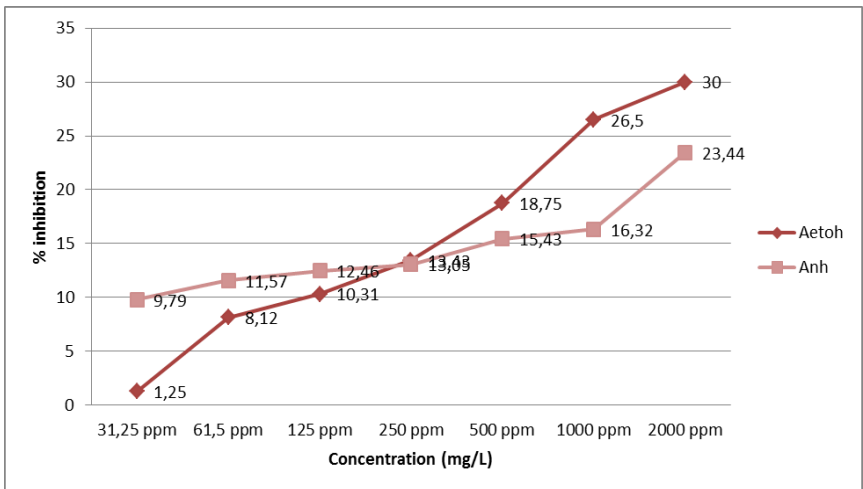
Gambar 24. retention time standar kuersetin dan hasil analisis Spektrofotometer UV Vis

Semakin rendah konsentrasi sampel, nilai retention time semakin tinggi. Hal ini menyebabkan senyawa menjadi lebih sulit dipisahkan dari senyawa lain, jika kadar dalam sampel tersebut tidak cukup banyak.

4.4. Uji aktivitas antioksidan

Uji antioksidan metode DPPH *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* digunakan secara luas untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak tumbuhan. Aktivitas antioksidan dalam ekstrak sarang lebah, bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hidrogen, menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning. Intensitas warna

diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Mokosuli 2008). Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) (Kikuzaki and Nakatani, 2005). Aktivitas antioksidan diperoleh dari persentase inhibisinya ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami, terhadap radikal DPPH. Persentase inhibisi ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Berdasarkan sebaran konsentrasi uji, ekstrak etanol (Aetoh) memiliki persen daya inhibisi radikal bebas terbaik dibandingkan dengan ekstrak n-heksan (Anh) (Gambar 25).



Gambar 25. Aktivitas inhibisi ekstrak pada berbagai konsentrasi uji terhadap radikal bebas DPPH

Dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C dengan IC₅₀ (6,73 mg/L), ekstrak etanol memiliki nilai IC₅₀ yang lebih baik yaitu 6,69 mg/L. Sedangkan ekstrak

n-heksan memiliki nilai IC₅₀ yang lebih rendah yaitu 6,76 mg/l (Tabel 1). Berdasarkan IC₅₀ yang diperoleh, ekstrak sarang lebah sangat potensial digunakan sebagai sumber bioaktif antioksidan. Ekstrak sarang lebah yang digunakan masih merupakan ekstrak kasar sedangkan vitamin C yang digunakan sebagai kontrol merupakan senyawa murni. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ <50 ppm, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC₅₀ bernilai 100-150 ppm, lemah jika IC₅₀ adalah 150-200 ppm, dan sangat lemah jika nilai IC₅₀ >200 ppm (Mardawati *et al.* (2008)

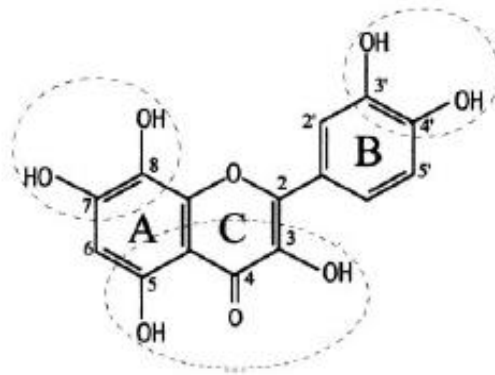
Tabel 5. Nilai IC₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah *Apis dorsata* Binghami

Simplisia	IC ₅₀ (ppm)
Vit C (kontrol)	6,73
Ekstrak etanaol (Aetoh)	6,690
Ekstrak n-heksan	6,766

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak etanol lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak n-heksan, didukung oleh kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Berdasarkan analisis kandungan golongan fitokimia, ekstrak etanol memiliki intensitas kandungan flavonoid, saponin dan tanin yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksan. Kelompok senyawa fenolik tersebut, telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (...). Ekstrak n-heksan mengandung lebih banyak senyawa dengan prekursor dasar lipid seperti triterpenoid dan steroid.

Flavonoid bertindak sebagai scavenger radikal bebas dengan memberikan atom hidrogen pada radikal bebas (Silva *et. al.* 2002). Aktivitas *scavenging* radikal bebas dari flavonoid tergantung pada struktur molekuler dan bentuk substitusi dari gugus hidroksil misalnya kemampuan hidrogen fenolik dan kemungkinan stabilisasi oleh radikal fenoksil melalui ikatan hidrogen atau delokalisasi elektron. Aktivitas struktur (*structure-activity relationship (SAR)*) dari flavonoid penting diketahui yaitu jumlah dan lokasi gugus fenolik OH yang berperan dalam

menetralkan radikal bebas (Amic *et al.* 2002). Berdasarkan analisis dengan HPLC terdapat lebih dari 20 jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol sarang lebah *Apis dorsata* Binghami sedangkan pada ekstrak n-heksan hanya ditemukan 4 senyawa flavonoid.



Gambar 26. Gugus hidroksi pada flavonoid yang berperan dalam peredaman radikal bebas.

Campuran beberapa senyawa polifenol mampu berfungsi sinergis dengan komponen lain sebagai antioksidan dan peredaman radikal bebas dan pencegahan berbagai penyakit (Meskin *et al.*, 2002). Walaupun demikian metode pengujian aktivitas antioksidan sangat berpengaruh dalam menghasilkan nilai IC50 (Shalaby and Sanaa 2012). Perbedaan nilai aktivitas antioksidan ini disebabkan oleh metode ekstraksi, metode pengujian serta kondisi operasi yang digunakan saat proses ekstraksi juga berbeda (volume pelarut, ukuran serbuk daun, waktu ekstraksi, suhu, dan tekanan). Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan kondisi operasi yang digunakan pada saat ekstraksi (Chu *et al.* 2012).

DAFTAR PUSTAKA

- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. 76(1), 55-61.

- Bankova, V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM*;2(1), 29–32. doi:10.1093/ecam/neh059
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research*; 15, 561-71.
- Barrientos, L., Herrera, C. L., Montenegro, G., Ortega, X., Veloz, J., Alvear, M., Cuevas, A., Saavedra, N., & Salazar, L.A. (2013). Chemical and botanical characterization of Chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Brazilian Journal of Microbiology* 44(2), 577-585. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822013000200038>.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food Chemical Toxicology*; 36: 347-63.
- BPOM R. I. (Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia). (2018). Peraturan badan pengawas obat dan makanan republik indonesia tentang kriteria dan tata laksana registrasi obat tradisional. <http://jdih.pom.go.id/rancanganpublikshowpdf.php?u>.
- Choi, S. J., Shimomura, K., Kumazawa, S., & Ahn, M. R. (2013). Antioxidant Properties and Phenolic Composition of Propolis from Diverse Geographic Regions in Korea. *Food Science and Technology Research*, 19 (2), 211–222. <https://doi.org/10.3136/fstr.19.211>
- Chuu, C. P., Lin H. P., Ciaccio, M. F., Kokontis J. M., Hause R. J., Hiipakka R. A., Liao, S., & Jones R. B. (2012). Caffeic Acid Phenethyl Ester Suppresses the Proliferation of Human Prostate Cancer Cells through Inhibition of p70S6K and Akt Signaling Networks. *Cancer Prevention Research*,; 5 (5): 788 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0004-T.
- Coneac, G., Gatifanu, E., Hadaruga, D. I., Hadaruga, N. G., Pinzaru, I. A., & Bandur, G. (2008). Flavonoid Content of Propolis from the West Side of Romania and

- Correlation with the Antioxidant Activity. *Chemical Bulletin Politechnic.*;53(67):56-60.
- De Oliveira, B. H., Nakashima, T., De Souza Filho, J. D., & Frehse, F. L. (2001). HPLC Analysis of Flavonoids in *Eupatorium littorale*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(2), 243–246. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532001000200019>
- De Vecchi, E., & Drago L. (2007). Propolis antimicrobial activity: what's new? *Le Infezioni in Medicina*; 15: 7-15.
- Daleprane, J. B., & Abdall, D. S. (2013). Emerging Roles of Propolis: Antioxidant, Cardioprotective, and Antiangiogenic Actions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2013, Article ID 175135, 8 pages (1-8) <http://dx.doi.org/10.1155/2013/175135>
- Farooqui, T., and Farooqui, A. A. (2010). Molecular Mechanism Underlying the Therapeutic Activities of Propolis: A Critical Review. *Current Nutrition & Food Science*, pp. 1-15, Vol. 6, No. 3.
- Faraouq, (2003). Ekstrak sebagai salah satu pengembangan bentuk obat tradisional. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII*, Jakarta. 45-52
- Hadisoesilo, S. (2001). Review : Keanekaragaman Spesies Lebah Madu Asli Indonesia. *Biodiversitas* 2, 123–128.
- Hadisoesilo, S., Raffiudin, R., Susanti, W., Atmowidi, T., Hepburn C, Radloff S. E., Fuchs S., & Hepburn R. (2007). Morphometric analysis and biogeography of *Apis koschevnikovi* Enderlein (1906). *Apidologie* 39 DOI: 10.1051/apido:2008029
- Hamasaka, T., Kumazawa, S., Fujimoto, T., & Nakayami, T. (2004). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Japan. *Food Science and Technology Research*; 10: 86-92.
- Harborne, J. B. (2008). Metode Fitokimia, penuntun dan cara modern menganalisis tumbuhan. Penerjemah : Padmawinata K dan Soediro I. Penerbit ITB Bandung

- Hattenschwiller, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends Ecology Evolution*. Jun;15(6):238-243.
- Inggrid, M., & Santoso, H. (2014). Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, III(3), 43.
- Kikuzaki, H., & Nakatani, N. (1993). Antioxidant effects of some ginger constituents. *Journal of Food Science* 58:1407-10.
- Kumar, N., Mueen-Ahmed, K. K., Dang, R., Shivananda, T. N., Das, K. (2009). GC-MS analysis of propolis of Indian origin. *Journal of Young Pharmacists* 1: 46-48 doi:[10.4103/0975-1483.51876](https://doi.org/10.4103/0975-1483.51876).
- Lenny, S. (2006). Isolasi dan uji bioaktivitas kandungan kimia utama puding merah dengan metode uji brine shrimp. USU Repository, Medan.
- Meskin, M. S., Bidlack W. R., Davies, A. J., & Omaye S. T. (2002). *Phytochemicals in Nutrition and Health*. CRC Press, London, New York.
- Molan, P. (2001). Why honey is effective as a medicine. Part 2. The scientific explanation of its effects. *Bee World* 1; 82: 22-40.
- Mokosuli, Y. S. (2008). Aktivitas antioksidasi dan antikanker ekstrak kulit batang Langsung (*Lansium domesticum L.*). (Tesis). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Mokosuli, Y. S. (2013). Karakter Morfologi, Sumber Pakan, Dan Bioaktivitas Farmakologis Racun Lebah Madu Endemik Sulawesi *Apis dorsata* Binghami DAN *Apis nigrocincta* Smith (HYMENOPTERA : APIDAE). (Disertasi). Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mokosuli, Y. S. & Repi, R. A. (2015). The Characteristics Of Bioactive Peptides And Antibacterial activity of honey bee (*Apis nigrocincta*) smith venom, endemic to sulawesi. *Molekul*, Vol. 10. No. 2. November: 135 - 144
- Marcucci, M. C., & Bankova, V. (1999). Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Curr Top Phytochem*; 2: 115-123.

- Mardawati, F., Filianty, & Marta, H. 2008. Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Padjadjaran.
- Mohammadzadeh, S., Shariatpanahi M., Hamed M., Ahmadvani R., Samadi N., & Ostad S.N. (2007). Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chemistry*; 103: 1097-103.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.006>
- Nazzi, F. (2016). The hexagonal shape of the honeycomb cells depends on the construction behavior of bees. *Sci Rep.* 2016; 6: 28341. Published online 2016 Jun 20. doi: [10.1038/srep28341](https://doi.org/10.1038/srep28341).
- Otis, G.W. (1991). Revised distribution of three recently recognized species of honey bees in Asia. *Honeybee Science* 15:167–170.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, Article ID 1259510, 21 pages <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
- Pérez-Pérez, E. M., Suárez, E., Peña-Vera, M. J., González, A. C., & Vit, P. (2013). Antioxidant activity and microorganisms in nest products of *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 from Mérida, Venezuela. pp. 1-8. In Vit P & Roubik DW, eds. Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela.
- Raffiudin, R. (2002). Honey bee behavioural evolution and itpr gene structure studies. [PhD Thesis]. James Cook University <http://eprints.jcu.edu.au/1249>
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*, 9(2), 196–202. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-7>
- Ra'ed, J. A., Ibrahim, K. N., Rula, M. D., & Mosa, A. (2008).

- Honey Bee Hive Modification for Propolis Collection. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, Vol 4(2)
- Repi, R. A., Mokosuli, Y.S., Ngangi, J., & Sumampouw, H. M. (2013). Hepatoprotective Activity Combination Between *Morinda Citrifolia* Linn (Mengkudu) Extract And Virgin Coconut Oil (VCO). *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. Vol.3, No.13, pp 160-166.
- Rosli, N. L., Roslan, H., Oma, E. A., Mokhtar, N., Hapit, N. H. A., & Asem N. (2016). Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Trigona Apicalis* propolis extract. *AIP Conference Proceedings* 1791, 020018 2016; doi: 10.1063/1.4968873. <https://aip.scitation.org/toc/apc/1791/1?expanded=1791>
- Sannomiya, V. B., Fonseca, M. A. D., & Silva L. (2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 97, no. 1, pp. 1–6,.
- Sawaya, A. C. H. F., Calado, J. C. P., Santos, L. C. D. S., Marcucci, M. C., Akatsu, I. P., & Soares, A. E. E. S., Abdelnur, P. V., Cunha I. B. D. S., and Eberlin M. N. (2009). Composition and antioxidant activity of propolis from three species of *Scaptotrigona* stingless bees. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1 (2): 37 - 42 (2009). DOI 10.3896/IBRA.4.01.2.03
- Saavedra, N., Barrientos, L., Herrera, C. L., Alvear, M., Montenegro G., & Salazar L. A. (2011). **Effect of Chilean propolis on cariogenic bacteria *Lactobacillus fermentum***. *Ciencia Investigacion Agraria*. [online]. vol.38, n.1, pp.117-125. ISSN 0718-1620. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202011000100011>.
- Shalaby, E. A., & Sanaa, M. M. S., (2012). Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 42(5):556-564.
- Seal, T. (2016). Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus*

- arvensis and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(2), 157–166. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60225>.
- Suseno, D., (2009). Aktivitas Antibakteri Propolis *Trigona* spp. Pada Dua Konsentrasi Berbeda Terhadap Cairan Rumen Sapi. <https://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/12572/G09dsu1.pdf?sequence=2>.
- Trusheva, B., Bankova, V., & Trunkova, D., (2007). Different extraction methods of biologically active components from propolis: A preliminary study. *Chemistry Central Journal*, 1:13 doi:10.1186/1752-153X-1-13.
- Veloz, J. J., Saavedra, N., Alvear, M., Zambrano T., Barrientos, L., & Salazar, L. A. (2016). Polyphenol-Rich Extract from Propolis Reduces the Expression and Activity of Streptococcus mutans Glucosyltransferases at Subinhibitory Concentrations. *BioMed Research International* Volume 2016, Article ID 4302706, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4302706>
- Waji, R. A., & Sugrani, A. (2009). Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quertecin). *Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*, 23.
- Yang, D., Wang Q., Ke, L., Jiang J., & Ying T. (2007). antioxidant activities of various extracts of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizome. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16 (Suppl 1): 158-163

Bab 5. Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

Aktivitas Antihiperlipidemia *in vivo* Ekstrak Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami

5.1. Koleksi Sarang lebah

Sarang *Apis dorsata* Binghami diperoleh langsung di hutan Minahasa (Gambar 27). Sarang lebah selanjutnya dibawa ke laboratorium Bioaktivitas dan Biologi Molekuler Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Manado.



(a)



(b)

Gambar 27. (a). Persarangan *Apis dorsata* Binghami di hutan Raringis, Minahasa, Sulawesi Utara, Indonesia (b). Sarang lebah yang digunakan untuk ekstraksi.

5.2. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sebelum digunakan dalam penelitian, tikus diadaptasikan selama 14 hari. Pada tahap adaptasi, tikus diberi pakan standar. Tikus yang digunakan adalah tikus yang dalam keadaan sehat dengan rata-rata bobot tubuh awal 230 gr.

5.3. Metode

a. Pembuatan simplisia ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami (ESAD)

Sampel sarang lebah yang diperoleh dikering anginkan selama 3 hari pada suhu kamar. Sarang lebah kemudian diblender sampai berbentuk serbuk. Serbuk kemudian disimpan dalam wadah plastik steril dan disimpan di refrigrator.

b. Pembuatan sediaan infusa sarang *Apis dorsata* Binghami

Serbuk sarang *Apis dorsata* Binghami digunakan untuk pembuatan sediaan cairan infusa. Masing-masing 5gr dan 10 gr serbuk direbus dengan akuades selama 15 menit. Hasil rebusan selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya filtrat yang diperoleh disebut infusa ekstrak *Apis dorsata* Binghami. Sediaan cair infusa sarang lebah dibuat dalam keadaan segar dan langsung digunakan pada saat perlakuan.

c. Induced hyperlipidemia

Pakan tinggi lemak yang digunakan untuk menginduksi hiperlipidemia terdiri atas campuran kuning telur ayam, kuning telur puyuh, jagung halus, pellet dan lemak sapi. Pakan dibuat dengan cara lemak sapi dipanaskan kemudian ditambahkan kuning telur burung puyuh, jagung halus, pelet dan dicampur secara merata.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dilakukan dalam 5 kelompok perlakuan. Masing-masing perlakuan terdiri atas 3 ekor tikus uji (tabel 6)

Tabel 6. Desain eksperimen uji antihiperlipidemia

Group	Replication	Treatment
N	3	Diberi pakan standar 15-20gr/hari dan air minum secara <i>ad libitum</i> .
K+	3	Diberi pakan hiperlipidemia 15-20gr/hari selama 30 hari, setelah itu diberi simvastatin selama 7 hari.
K-	3	Diberi pakan hiperlipidemia 15-20gr/hari selama 11 minggu
P1	3	Diberi pakan hiperlipidemia 15-20gr/hari selama 11 minggu, setelah itu diberi ekstrak infusa sarang lebah selama 7 hari.
P2	3	Diberi pakan hiperlipidemia 15-20gr/hari selama 11 minggu,

Potensi Bioaktif dari *Apis dorsata* Binghami

setelah itu diberi ekstrak infusa sarang lebah selama 7 hari.

d. Evaluasi aktivitas antihiperlipidemia

Tikus untuk kontrol normal hanya diberi pakan standar dan air minum, sedangkan tikus kelompok kontrol negatif diberi pakan tinggi lemak selama 30 hari. Kelompok kontrol positif diberi pakan tinggi lemak selama 30 hari setelah itu diikuti dengan pemberian pakan standar dan simvastatin selama 7 hari. Kelompok uji dosis I diberi pakan tinggi lemak selama 30 hari, setelah itu diikuti dengan pemberian pakan standar dan ekstrak infusa sarang lebah 5 gr/kgBB selama 30 hari. Kelompok uji dosis II diberi pakan tinggi lemak selama 30 hari, setelah itu diikuti dengan pemberian pakan standar dan ekstrak infusa sarang lebah 10 gr/kgBB selama 7 hari.

e. Analisis profil lipid

Pengukuran kadar lipid darah dilakukan sebanyak 3 kali yaitu setelah adaptasi, setelah induksi hiperlipidemia dan setelah induksi ekstrak infusa sarang *Apis dorsata* Binghami. Parameter yang diamati adalah kadar kolesterol total, low density lipoprotein (LDL) dan trigliserida dalam darah. Darah tikus diambil melalui ekor, sebelum pengambilan darah ekor tikus dibersihkan dengan alkohol. Ekor tikus digunting dengan gunting steril, sampai mengeluarkan darah. Darah yang keluar diambil menggunakan sendok darah, kemudian diteteskan pada test strip pada alat Lipid Pro.

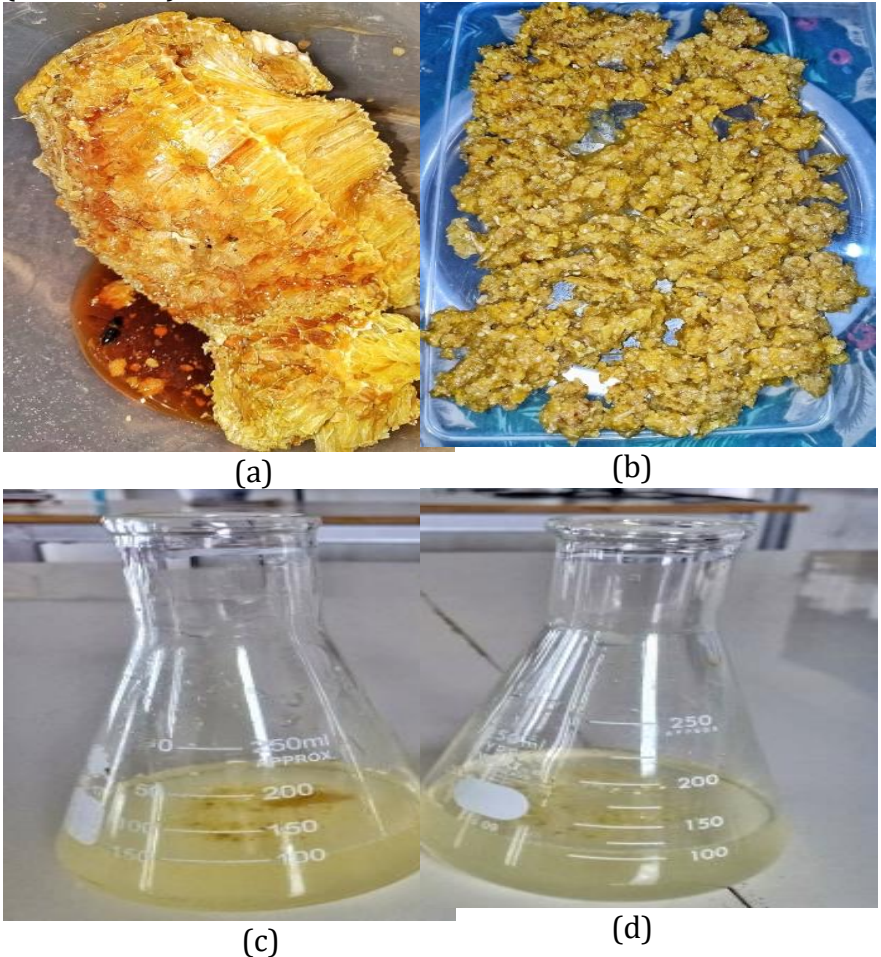
f. Analisis statistik

The results of the study were expressed as mean \pm S.E. Data was analyzed by using one way analysis of variance test (ANOVA) followed by Least Significance Different test for multiple comparisons. Values with $p < 0.05$ were considered as significant. Statistical analysis was used SPSS IBM 20.

5.4. Hasil uji *in vivo* antihiperlipidemia

a. Ekstrak Infusa Sarang *Apis dorsata* Binghami

Sarang lebah diperoleh dari wilayah Minahasa. Warna sarang kuning keemasan. Sarang yang digunakan berumur sekitar 30 hari. Madu dan sarang beraroma cengkih, disebabkan banyaknya cengkih yang berbunga disekitar sarang *Apis dorsata* Binghami. Ekstrak infusa sarang lebah *Apis dorsata* Binghami berwarna kuning muda, baik ekstrak dengan konsentrasi 5% (P1) maupun 10 % (P2). Walaupun demikian, ekstrak P21 berwarna lebih kuning dibandingkan ekstrak konsentrasi P1 (Gambar 28).



Gambar 28 a. Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dari Minahasa b. Sarang lebah setelah dikeringkan dan dihaluskan c. Ekstrak infusa 10% d. Ekstrak infusa 5%.

b. Kadar lipid darah tikus sebelum dan sesudah memberikan pakan hiperlipidemia

Rata-rata kadar kolesterol total awal tikus putih diukur dengan **autocheck** berada dibawah 100 mg/dl, baik pada kontrol positif, normal maupun kelompok perlakuan (Lamp. 1). Setelah perlakuan pakan hiperlipidemia terjadi peningkatan kadar lipid dalam darah tikus putih. Rata-rata kadar kolesterol total tertinggi pada kelompok P2 224 mg/dl; kadar trigliserida tertinggi pada kelompok K- yaitu 236 mg/dl sedangkan kadar LDL tertinggi pada kelompok P2 yaitu 166 mg/dl (tabel 7.).

Tabel 7. Rata-rata kadar lipid tikus putih setelah pemberian pakan hiperlipidemia.

Kelompok	Parameter lipid		
	Kolesterol Total	Trigliserida	LDL
*) N	104,67	105,67	35,33
K+	193,67	227,67	144,67
K-	217,33	236,00	143,00
P1	217,33	226,33	157,67
P2	224,00	227,33	166,00

Ket : * tidak diberikan perlakuan hiperlipidemia

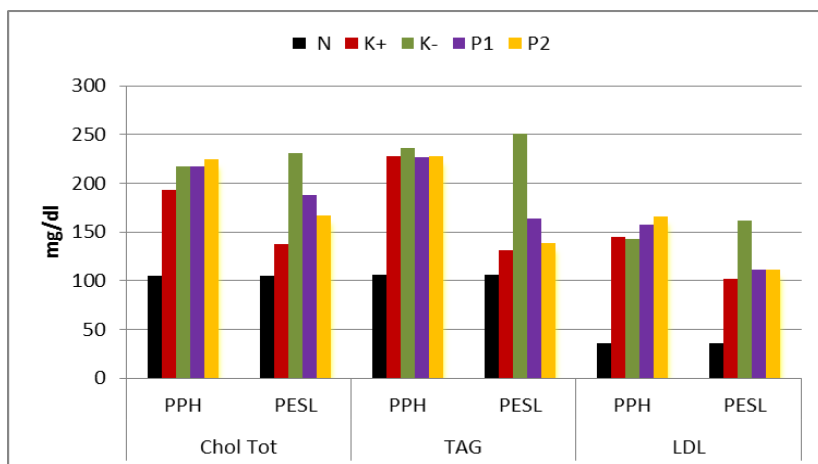
c. Kadar lipid darah tikus setelah pemberian ekstrak infusa sarang lebah

Rata-rata kadar kolesterol total tertinggi ditemukan pada kelompok K- yaitu 231, 33 mg/dl, sedangkan terendah pada kelompok P2 yaitu 104,67 mg/dl. Rata-rata kadar trigliserida tertinggi pada kelompok K- yaitu 251 mg/dl, sedangkan terendah pada kelompok N yaitu 105,67 mg/dl. Rata-rata kadar LDL tertinggi pada kelompok K- yaitu 162 mg/dl sedangkan terendah pada kelompok N yaitu 35, 33 mg/dl. Rata-rata kolesterol total, Trigliserida dan LDL kelompok perlakuan ekstrak sarang lebah (P1 dan P2) masih lebih baik dibandingkan kontrol negatif (Tabel 4 dan gambar 8).

Tabel 8. Rata-rata kadar Lipid tikus putih setelah pemberian ekstrak infusa sarang lebah *Apis dorsata* Binghami (mg/dl).

Kelompok	parameter lipid		
	Kolesterol total	Trigiserida	LDL
*) N	104,67	105,67	35,33
*) K+	137,33	131,33	101,67
*) K-	231,33	251,00	162,00
P1	188,33	163,67	111,33
P2	167,00	138,33	110,67

Ket : *) tidak diberikan ekstrak infusa sarang *Apis dorsata* Binghami



Gambar 29. Diagram batang rangkuman rata-rata profil lipid tikus putih.

Keterangan :

1. PPH : Pemberian pakan hiperlipidemia
2. PESL : Pemberian ekstrak sarang lebah
3. N : Kelompok kontrol normal, tidak diberikan perlakuan hiperlipidemia
4. K+ : Kelompok kontrol positif, diberikan simvastatin
5. K- : Kelompok kontrol negatif
6. P1 : Kelompok uji ekstrak infusa sarang lebah 5 gram
7. P2 : Kelompok uji ekstrak infusa sarang lebah 10 gram

Berdasarkan analisis varinas menggunakan SPSS IBM 20, diperoleh terdapat pengaruh pemberian ekstrak

infusa sarang lebah *Apis dorsata* Binghami terhadap kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL ($p > 0,05$) (Lampiran 2). Oleh karena perlakuan ekstrak sarang lebah berpengaruh nyata pada tiga parameter lipid yang diukur, maka dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil uji BNT untuk parameter kadar kolesterol darah tikus menunjukkan kelompok K- berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan kelompok K+ ($p > 0,05$). Pada kelompok P1 menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok K- ($p > 0,05$). Kelompok P1 menunjukkan perbedaan tidak signifikan dengan kelompok P2. Kelompok K+ tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok P2 ($p > 0,05$). (Tabel 3). Hasil uji BNT untuk parameter trigliserida, kelompok K- berbeda signifikan dengan kelompok P1, kelompok P2 dan kelompok K+ ($p > 0,05$). Kelompok P2 tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok P1 dan K+ ($p > 0,05$). (Tabel 7). Hasil uji BNT untuk parameter LDL, kelompok K- berbeda signifikan dengan kelompok K+, kelompok P1 dan kelompok P2 ($p > 0,05$). Kelompok P1 dan kelompok P2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok K+ ($p > 0,05$).

5.5. Aktivitas antihiperlipidemia

Perlakuan ekstrak 10% (P2) sarang lebah *Apis dorsata* Binghami (b/v) telah mampu menunjukkan efek penurunan kolesterol total, trigliserida dan LDL. Perlakuan ekstrak 5% belum berpengaruh nyata pada kolestrol total akan tetapi berpenaruh nyata pada LDL dan Trigliserida. Walaupun demikian, kelompok K+ yang menggunakan obat terstandar Simvastatin (Kalbe Farma), memiliki rata-rata kadar kolesterol lebih rendah (137,33 mg/dl) dibandingkan dengan P2 (167,00 mg/dl).

Berdasarkan analisis kandungan golongan fitokimia, ekstrak etanol sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dari Minahasa mengandung flkavonoid (+++), alkaloid (+), steroid (++), triterpenoid (++). Lebih lanjut, berdasarkan hasil analisis HPLC dan spektrofotometer UV Vis telah diketahui ekstrak etanol sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dari minahasa mengandung 20 jenis flavonoid. Analisis kandungan senyawa fenol dengan

spektrofotometer UV Vis ditemukan 5 jenis senyawa fenolik pada ekstrak etanol sarang Apis dorsata Binghami dari Minahasa, Sulawesi Utara, Indonesia (Mokosuli et.al. 2019). Walaupun demikian komposisi kandungan bioaktif pada sarang lebah tergantung pada jenis lebah madu, biodiversitas tumbuhan dan letak geografis (Sawaya et.al. 2009; Mokosuli, 2013). Pada penelitian ini, sarang lebah Apis dorsata Binghami dari Minahasa memiliki aroma khas yaitu aroma cengkih. Hal ini berarti lebah pekerja banyak mengunjungi dan mengambil nektar, resin tanaman (propolis) dan polen dari tanaman cengkih disekitar sarangnya. Sarang lebah madu tersusun atas biomolekul wax, propolis, royal jelly, polen dan madu. Masing-masing biomolekul tersebut mengandung senyawa-senyawa spesifik dan telah banyak diteliti memiliki khasiat obat. Flavonoid yang ditemukan dari sarang lebah pada penelitian ini diduga berasal dari propolis. Propolis merupakan resin dengan campuran dari enzim lebah, esensial oil, mineral organik, lilin dan madu. Propolins merupakan jenis flavonoid utama dari propolis lebah madu (Chen et.al. 2018; Kumasawa et. al. 2004; Sawaya et.al. 2009).

Flavonoid berperan dalam menurunkan kadar kolestrol darah dengan cara menurunkan aktivitas HMG-KoA reduktase, menurunkan aktivitas enzim *acyl-CoA cholesterol acyltransferase* (ACAT) dan menurunkan absorbs kolestrol di saluran pencernaan. Kemampuan anti hiperlipidemia propolis sarang lebah berperan dalam menurunkan risiko penyakit kardiovaskular dan komplikasi penyakit lainnya. (Rumanti, 2011). Flavonoid juga merupakan senyawa polar yang umumnya larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, serta air. (Markham, 1998). Flavonoid dapat menghambat oksidasi LDL pada pembuluh darah (Orsolice et. al. 2019; Miura et al., 2000; Zhu et.al. 2000). Pada penelitian sebelumnya, telah diketahui ekstrak kasar sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dari Minahasa memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH yang kuat (IC_{50} : 6,69 mg/L) dibandingkan kontrol positif vitamin C (IC_{50} : 6,73 mg/L) (Mokosuli et.al. 2019).

Selain flavonoid, golongan fitokimia steroid dapat menurunkan kolesterol dalam pembentukan lipoprotein dan kilomikron. Hal ini dapat menyebabkan penurunan kandungan kolesterol darah (Kumar dan Devanna, 2016). Saponin dapat mengikat kolesterol LDL pada pembuluh darah, sehingga mencegah proses aterosklerosis (Mokosuli, 2008). Ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami mengandung saponin dan steroid dengan intensitas yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi R. 2010. Flavonoid: Struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. J. Belian, Vol. 9, No. 2.
- Abdulbasit, Oladoyo, Olamide, Olassile, Babatunde, Gbolahan. 2013. Effect Nigerian Propolis on Glycemia, Lipid Profile, and Oxidative Stress Markers in Alloxan-Induced Diabetic Rats. PHOL, 2; 149-158.
- Bankova VS, de Castro SL, & Marcuccic MC. 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie, 31, 3-15.
- Bankova V, Trusheva B, & Popova M. 2008. New developments in propolis chemical diversity studies (since 2000). Scientific evidence of the use of propolis in ethnomedicine, 2008, 1-13.
- Chen, L.H., Chien, Y.W., Chang, M.H., Hou, C.C., Chan, H.C., Tang, H.W., Huang, H.Y. 2018. Taiwanese Green Propolis Ethanol Extract Delays the Progression of Type 2 Diabetes Mellitus in Rats Treated with Streptozotocin/High-Fat Diet. Nutrients. 2018 Apr; 10(4): 503. Published online 2018 Apr 18. doi: [10.3390/nu10040503](https://doi.org/10.3390/nu10040503)
- Dirjen POM. Farmakope indonesia edisi III. Jakarta : Departemen Kesehatan RI. 1979.
- Dyer FC. 1985. Nocturnal orientation by the asian honey bee, *Apis dorsata*. *Animal Behavior*. 33:769-774
- Engel MS. 2012. The honey bees of Indonesia (Hymenoptera: Apidae). *Treubia*. 39:41-49.

- Fitriani, S. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Herba Ciplukan (*Physalis angulate* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Putih Jantan Wistar Yang Diberi Diet Lemak Tinggi. Universitas Islam Indonesia; Yogyakarta. [Naskah Publikasi]
- Fransk NR, Pratt SC, Mallon EB, Britton NF, Sumpter DJT. 2002. Information flow, opinion polling and collective intelligence in house-hunting social insects. *PTRSL*. 357: 1567-1583.
- Hadisoesilo S, Kuntadi. 2007. Kearifan Tradisional dalam Budidaya Lebah Hutan (*Apis dorsata*). Departemen Kehutanan. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Bogor. ISBN: 978-979-3145-38-9
- Hargono, D. 1986. *Sediaan Gelanik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hegazi AG. 1998. Propolis an overview. *J Bee Informed*, 5, 22-28.
- Heldt, J and D. Heldt. *Plant biochemistry*. Elsevier, London, 2005.
- Hepburn R, Radloff SE. 2011. *Honeybees of Asia*. New York (US). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Hernasari. 2010. Efek Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol Dan Lemak. Universitas Indonesia: Jakarta.
- Kahono S, Nakamura K, Amir M. 1999. Seasonal msigration and colony behavior of the tropical honeybee *Apis dorsata* F. (Hymenoptera: Apidae). *Treubia*. 31(3)283-297.
- Karim, S. F. 2014. Uji Aktivitas Infusa Daun Srikaya (*Annona squamosal* L.) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Dalam Darah Mencit (*Mus Musculus*). Universitas Islam Negeri Alaudin: Makassar. [Skripsi]
- Kumazawa S, Hamasaka T, & Nakayama T. 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origin. *Food Chemistry*, 84, 329-339.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy L, & Jimenez L. 2004. Polyfenols food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79, 727-47.

- Mead D. 2013. A guide to some bees and wasps of Indonesia. Sulang Language Data and Working Papers: Topics in Lexicography, no. 11. Sulawesi Language Alliance. <http://sulang.org/>.
- Mokosuli YS. Karakter Morfologi, Sumber Pakan dan Bioaktivitas farmakologis Racun lebah madu endemic Sulawesi *Apis dorsata* Binghami dan *Apis nigrocincta* Smith (Hymenoptera: Apidae). [Disertasi]. Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi, 2013.
- Mokosuli YS, Pelealu J, Tulung M, Mandey LC. Pharmacological Bioactivity Honey Bee Venom *Apis nigrocincta* Smith and *A. dorsata* Binghami Endemic to North Sulawesi. International Journal of Science and Engineering Investigations. 2013; 2(18):25-33.
- Mokosuli Y.S., Kanuang E.S.N., dan Manopo J.S. 2018. Pengembangan Biofarmaka Antihiperlipidemia Ekstrak Sarang *Apis dorsata* Binghami Lebah Madu Endemik Sulawesi. [Laporan Penelitian DRPM]. Lembaga Penelitian Universitas Negeri Manado.
- Miura, Yukiko, Tsuyoshi Chiba, Shinji Miura, Isao Tomita, Keizo Umegaki, Masahiko Ikeda and Takako Tomita. (2000). *Green Tea Polyphenols (Flavan 3-ols) Prevent Oxidative Modification of Low Density Lipoproteins: An ex Vivo Study in Humans*. J. Nutr. Biochem (11): 216-222
- Neumann P, Koeniger N, Koeniger G, Tingek S, Kryger P, Morits RFA. 2000. Home-site fidelity of migratory honeybees. *Nature*. 406:474-475.
- Neupane KR, Woyke J, Poudel SM. 2013. Nesting site-preference and behavior of giant honey bee *Apis dorsata*. Paper presented on Apimondia, 29 September-4 October 2013 , Kyiv, Ukraine and published on abstract and working procedure Apimondia, 2013.
- Oldroyd BP, Nanork P. 2009. Conservation of asian honeybees. *Apidologie*. 40: 296-312.
- Orsolc N, Jurcevic, I.L., Dikic, D., Rogic, D., Odeh, Balta, V., D.,Junacovic, E.P., Terzic, S., and Jutric, D. Effect of Propolis on Diet-Induced Hyperlipidemia and Atherogenic Indices in Mice. Antioxidants, 2019, 8,

- 156; doi:10.3390/antiox8060156.
www.mdpi.com/journal/antioxidants
- Raffiudin R. 2002. Honey bee behavioural evolution and itpr gene structure studies. [PhD Thesis]. James Cook University <http://eprints.jcu.edu.au/1249>.
- Raffiudin R, Crozier R. H. 2007. Phylogenetic analysis of honeybee behavioral evolution. *MPE*. 43:543-552.
- Rumanti, R. T. Efek Propolis Terhadap Kadar Kolestrol Total Pada Tikus Model Tinggi Lemak. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 11(1):17-22.
- Ruttner F. 1988. *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. New York (US). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Sakagami FS, Matsumara T, Ito K. 1980. *Apis laboriosa* in Himalaya, the little known world largest honeybee (Hymenoptera: Apidae). *Insect Matsum*. 19:47-77.
- Sawaya ACHF, Calado JCP, Santos LCDS, Marcucci MC, Akatsu IP, Soares AEES, Abdelnur PV, Cunha IBDS and Eberlin MN (2009). Composition and antioxidant activity of propolis from three species of Scaptotrigona stingless bees. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1 (2): 37 - 42 (2009). DOI 10.3896/IBRA.4.01.2.03
- Seeley TD. 1985. *Honeybee Ecology A Study of Adaptation in Social Life*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, United Kingdom
- Starr CK, Schmidt PJ, Schmidt JO. 1987. Nest site-preferences of the giant honey bee, *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae), in Borneo. *Pan Pasific Entomol*. 63(1):37-42.
- V, Chris. Makalah Tentang Lebah Madu
https://www.academia.edu/27562526/makalah_tentang_lebah_madu. (diakses tanggal 28 Maret 2018)
- Wijaya, A. 1993. Patogenesis Hiperlipidemia. *Forum Diagnostikum* No 5/1993.
- Zhu, Qin Yan, Yu Huang and Zhen-Yu Chen. (2000). *Interactions Between Flavonoids and α -Tocopherol in Human Low Density Lipoprotein*. J. Nutr. Biochem. (11): 14-21

SINGKATAN

BM	: berat molekul
BV	: bee venom
CO1	: sitokrom oksidase sub unit 1
IC ₅₀	: inhibitory concentration 50
LC ₅₀	: lethal concentration 50
MDA	: malonilaldehida
MCDP	: mast cell degranulating peptide
kDal	: kilo dalton
KHTM	: konsentersasi hambat tumbuh minimum
NCBI	:National Center for Biotechnology Information at The National Library of Medicine in Washington, DC
OD	: optical density
PAGE	: poliakrilamid gel elektroforesis
PCA	: principal component analysis
PLA2	: Fosfolipas A2
ROS	: radical oxygen spesies
SDS	: sodium deodesil sulfat
SEM	: scaning electron mikroskop
TBA	: tiobarbiturat acid
TBARS	: thiobarbituric acid reactive substances
TCA	: trichloroasetat
TMP	: 1,1,3,3-tetrametoksipropana
ZH	: zona hambat