

Aktivitas Antioksidan Minuman Daun Beluntas Teh Hitam (*Pluchea indica* Less-*Camelia sinensis*)

Antioxidant Activity of Pluchea Leaves-Black Tea Drink (*Pluchea indica* Less-*Camelia sinensis*)

Paini Sri Widyawati^{1*}, Tarsisius Dwi Wibawa Budianta¹,
Yesiana Dwi Wahyu Werdani², Maria Olivia Halim¹

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Dinoyo 42-44 Surabaya, 60265, Indonesia

² Fakultas Keperawatan, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Kalisari Selatan 1, Pakuwon City, Surabaya, 60112, Indonesia

*Email: wiwiedt@gmail.com

Tanggal submisi: 6 Juni 2017; Tanggal penerimaan: 23 Mei 2018

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi minuman daun beluntas teh hitam sebagai antioksidan pada berbagai proporsi. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok satu faktor, yaitu proporsi daun beluntas teh hitam meliputi 100:0; 75:25; 50:50; 25:75; dan 0:100% (b/b). Tiap faktor diulang sebanyak 5 kali. Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi kandungan metabolit sekunder, total fenolik (TPC), total flavonoid (TFC), kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, dan kemampuan mereduksi ion besi. Data dianalisis secara statistik dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada $\alpha = 5\%$, jika terdapat beda signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Data dinyatakan dengan rata-rata \pm standar deviasi. Hasil menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terkandung dalam minuman daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, dan kardiak glikosida. Peningkatan proporsi teh hitam menambah intensitas senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida yang terdeteksi, tetapi kandungan senyawa tannin berkurang. Kandungan metabolit sekunder ini berkorelasi dengan total fenolik (TPC) dan total flavonoid (TFC). Peningkatan proporsi teh hitam dalam minuman menurunkan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dan kemampuan mereduksi ion besi, kecuali pada proporsi teh hitam 100%. Kandungan senyawa tannin dalam minuman menentukan aktivitas antioksidan. Berdasarkan koefisien korelasi antara TPC atau TFC dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH atau kemampuan mereduksi ion besi, hasil menunjukkan bahwa kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dominan dikontribusi oleh TPC dan kemampuan mereduksi ion besi ditentukan oleh TPC dan TFC.

Kata kunci: Antioksidan; teh hitam beluntas; daun beluntas

ABSTRACT

The research was conducted to explore the potency of pluchea leaves-black tea drink as antioxidant at various proportions. The research used a single factor randomized block design of pluchea leaves and black tea proportions, including 100:0; 75:25; 50:50; 25:75; and 0:100% (w/w). Each of it was repeated five times. The parameters observed in this study were secondary metabolites, total phenolic, total flavonoids, free radical DPPH scavenging activity, and iron reducing power. The data were statistically analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) at $\alpha = 5\%$, if the analysis showed a significant effect then it was continued with Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Data was stated as mean \pm standard deviation. The results showed that the secondary metabolites containing in drink from pluchea leaves and black tea at various proportions were alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins, tannins, and cardiac glycosides. The increasing of black tea proportion in samples added the intensity of alkaloids, phenolics, flavonoids, saponins, and cardiac glycosides compounds detected, but the tannins were decreased. These secondary metabolites were correlated with total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC). The increasing of black tea proportion in drink significantly decreased DPPH free radical scavenging activity and iron ion reducing power, except for 100% black tea proportion. Tannin compounds seems determining antioxidant activity. Based on coefficient correlation between TPC or TFC and DPPH free radical scavenging activity or iron ion reducing power, the result

showed that DPPH free radical scavenging activity was dominantly contributed by TPC and iron ion reducing power was determined by TPC and TFC.

Keywords: Antioxidant; black tea; pluchea leaves

PENDAHULUAN

Beluntas (*Pluchea indica* Less) adalah tanaman herba kelompok *Asteraceae*, yang telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, baik dalam bentuk ekstrak (Widyawati 2016a; Widyawati dkk., 2014a) maupun dalam bentuk seduhan (Widyawati dkk., 2016b; Srisook dkk., 2012). Hal ini disebabkan daun beluntas mengandung sejumlah metabolit sekunder, seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, tannin, sterol, fenol hidrokuinon, saponin, dan kardiak glikosida (Widyawati dkk., 2011; Widyawati dkk., 2014a; Ardiansyah dkk., 2003; Andarwulan dkk., 2010). Studi sebelumnya telah membuktikan aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas dalam berbagai metode uji, seperti: kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, mereduksi ion besi, menangkal radikal superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil, mengkelat ion besi dan hemoglobin, mencegah pemucatan pada sistem uji asam linoleat- β -karoten (Widyawati dkk., 2012, 2014b).

Teh hitam (*Camelia sinensis*) merupakan daun teh yang diolah dengan proses fermentasi, sehingga menyebabkan senyawa-senyawa polifenol mengalami oksidasi dengan adanya enzim polifenol oksidase dengan bantuan oksigen dari udara menjadi ortokuinon, kemudian berkondensasi menjadi teaflavin dan tearubigin (Obanda dkk., 2004). Teaflavin berhubungan erat dengan karakteristik air seduhan, seperti kecerahan (*brightness*), kesegaran (*briskness*), dan kekuatan (*strength*). Tearubigin berhubungan dengan penampilan, terutama warna air seduhan (Gardjito dan Rahadian, 2015). Teh hitam mengandung komponen volatil sebanyak 404 macam, komponen ini berperan memberikan cita rasa yang khas. Komponen aktif yang terkandung dalam teh, baik yang volatil maupun non volatil antara lain polifenol, metil xantin, asam amino, peptida, asam tanat, vitamin C, vitamin E, vitamin K, β -karoten, kafein, kalsium, dan mineral lainnya. Komponen polifenol meliputi flavon, flavonol, flavonon, katekin, antosianidin, dan isoflavon. Teh berkhasiat untuk menurunkan resiko penyakit kanker, menurunkan kolesterol, menurunkan resiko penyakit kardiovaskular (Leenen dkk., 2000), menurunkan berat badan, mencegah osteoporosis, dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Gardjito dan Rahadian, 2015), antibakteri (Yam dkk., 1997), antidiabetik (Cabrerera dkk., 2006), antiinflamasi (Karori dkk., 2008), dan antiviral (Song dkk., 2005). Senyawa katekin, theaflavin dan thearubigin pada teh hitam berpotensi sebagai antioksidan yang kuat (Maurya dan Rizvi, 2009).

Potensi metabolit sekunder dalam minuman dari air seduhan campuran daun beluntas teh hitam pada

berbagai proporsi sebagai antioksidan belum pernah dipelajari. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi minuman daun beluntas teh hitam sebagai antioksidan pada berbagai proporsi.

METODE PENELITIAN

Bahan Baku dan Kimia

Daun beluntas diperoleh dari kebun tanaman beluntas di daerah Mangrove, Wonorejo, Rungkut, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia. Teh hitam dibeli dari PT. Rolas Nusantara Mandiri Surabaya, Jawa Timur, Indonesia. Kantong teh dibeli dari Akas Packaging (Kwarasan, Godean, DI Yogyakarta).

Metanol, besi (II) klorida, kalium ferrisianida, natrium karbonat, etanol, petroleum eter, tembaga sulfat, Folin ciocalteus's fenol, aluminium klorida, natrium nitrit, natrium hidroksida, amil alkohol, kloroform, amonium hidroksida, asam sulfat, merkuri klorida, kalium iodida, iodin, magnesium, asam asetat, asam klorida, eter, asam kloroasetat, natrium dihidrogen fosfat, dinatrium hidrogen fosfat, natrium asetat, dan aloksan dibeli dari *Merck Company (Darmstadt, Jerman)*. Kalium natrium tartrat tetrahidrat, radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrasil, asam gallat, (+)-katekin, dibeli dari *Sigma-Aldrich Company Ltd. (Gillingham, Inggris)*. Air mineral kemasan pH 7,65 dibeli dari PT Erindo Mandiri (Surabaya, Jawa Timur, Indonesia) dan akuades dibeli dari PT. Akua Surabaya (Surabaya, Jawa Timur, Indonesia).

Preparasi Sampel

Daun beluntas (*Pluchea indica* Less) dipetik dari ruas 1-6 (Widyawati dkk., 2011). Daun kemudian dikeringkan pada suhu kamar dan dibubukan dengan ukuran 40 mesh. Kadar air bubuk daun beluntas sebesar $13,05 \pm 0,34\%$ (db). Teh hitam yang sudah kering dibubukan dengan ukuran 40 mesh dengan kadar air sebesar $6,32 \pm 0,16\%$ (db). Bubuk daun beluntas dan teh hitam dihomogenkan masing-masing, selanjutnya ditimbang dengan perbandingan proporsi daun beluntas teh hitam masing-masing 100:0; 75:25; 50:50; 25:75; dan 0:100% (b/b). Campuran bubuk daun beluntas teh hitam dimasukkan kantong teh celup dengan total berat 2 g untuk diseduh dalam 100 mL air mineral kemasan.

Pembuatan Minuman Daun Beluntas Teh Hitam

Setiap campuran bubuk daun beluntas dan teh hitam pada berbagai proporsi dalam kemasan kantong teh diseduh dengan air mineral suhu 95 °C sebanyak 100 mL selama 5 menit sambil diaduk (Deetae dkk., 2012). Ampas campuran daun beluntas teh hitam dalam

kemasan kantong teh dipisahkan dari air seduhan, selanjutnya air seduhan dianalisis lebih lanjut. Setiap analisis air seduhan harus dalam kondisi *fresh*.

Komposisi Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder yang terkandung dalam air seduhan campuran daun beluntas teh hitam dideteksi menggunakan uji fitokimia metode Harborne (1996). Senyawa yang diidentifikasi meliputi: alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid, sterol, saponin, tanin, dan kardiak glikosida (*Fehling test*).

Analisis Total Fenolik

Total fenolik (TPC) dianalisis dengan metode *Folin ciocalteu's phenol*. Analisis ini didasarkan pada reaksi antara senyawa antioksidan yang mempunyai cincin aromatik dan senyawa fosfomolibdat dari pereaksi *Folin ciocalteu's phenol*. Reaksi tersebut menghasilkan larutan berwarna biru yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu spectrophotometer UV-Vis 1700*, Jepang) pada λ 760 nm, dimana hasil dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam gallat/L sampel (mg GAE/L sampel) (Singleton dkk., 1999).

Analisis Total Flavonoid

Total flavonoid (TFC) dianalisis berdasarkan metode Al-Temimi dan Choudary (2013). Prinsip analisis ini adalah pembentukan senyawa kompleks asam yang stabil dari reaksi antara $AlCl_3$ dan gugus okso pada cincin C_4 dan gugus hidroksil pada cincin C_3 atau C_5 pada senyawa flavon dan flavonol, sehingga menghasilkan larutan merah setelah ditambah larutan NaOH. Senyawa ini dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu spectrophotometer UV-Vis 1700*, Jepang) pada λ 510 nm yang dinyatakan sebagai mg ekuivalen katekin/L sampel (mg CE/L sampel).

Analisis Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH

Kemampuan menangkal radikal bebas DPPH didasarkan metode Brand William dkk. (1995). Prinsip analisis ini adalah pembentukan senyawa pikrilhidrasin

yang berwarna kuning (DPPH-H) akibat donor elektron atau atom hidrogen oleh senyawa antioksidan kepada radikal DPPH. Penurunan intensitas warna ungu diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu spectrophotometer UV-Vis 1700*, Jepang) pada λ 517 nm dengan asam gallat sebagai larutan standar.

Analisis Kemampuan Mereduksi Ion Besi

Kapasitas mereduksi ion besi ditentukan dengan metode Chanda dan Dave (2009), berdasarkan kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} menjadi ion Fe^{2+} . Senyawa kompleks biru Berlin yang terbentuk ditentukan dengan spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu spectrophotometer UV-Vis 1700*, Jepang) pada λ 700 nm menggunakan asam gallat sebagai larutan standar (Al-Temimi dan Choudhary, 2013).

Analisa Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok satu faktor yaitu proporsi daun beluntas teh hitam. Percobaan diulang sebanyak lima kali. Data dianalisa secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada $\alpha = 5\%$, jika analisa menunjukkan ada perbedaan signifikan dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Data dinyatakan dalam rata-rata \pm standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Metabolit Sekunder

Minuman campuran daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi teridentifikasi mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin dan kardiak glikosida (Tabel 1). Semakin besar proporsi teh hitam yang ditambahkan maka intensitas warna larutan semakin pekat, hal ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida semakin bertambah, kecuali senyawa tanin. Tinkilic dan Uyanik (2001) menginformasikan bahwa kandungan tannin dalam ekstrak air panas dari teh, teh celup dan teh herbal masing-masing berkisar

Tabel 1. Komposisi metabolit sekunder pada minuman daun beluntas-teh hitam pada berbagai proporsi

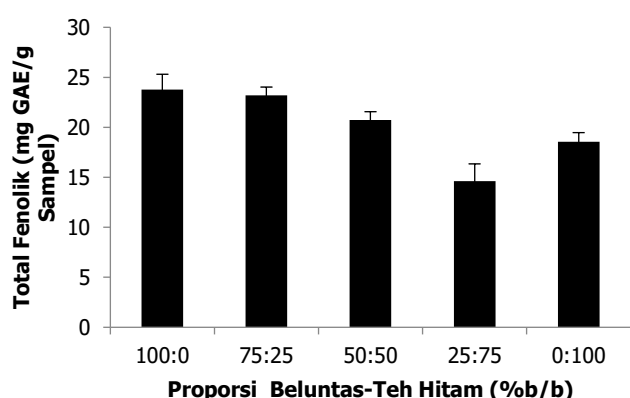
| Metabolit sekunder | Beluntas : Teh Hitam | | | | |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|
| | (100:0%) | (75:25%) | (50:50%) | (25:75%) | (0:100%) |
| Alkaloid | + | ++ | +++ | +++++ | +++++++ |
| Fenolik | + | ++ | +++ | ++++ | +++++ |
| Flavonoid | + | + | ++ | ++ | ++++ |
| Triterpenoid | - | - | - | - | - |
| Sterol | - | - | - | - | - |
| Saponin | + | ++ | ++++ | ++++ | +++++ |
| Tanin | +++++++ | +++++ | +++ | +++ | + |
| Kardiak glikosida | + | ++ | ++++ | +++++ | +++++ |

Catatan : + = terdeteksi, - = tidak terdeteksi

antara 6,20–8,33; 8,03–6,59 dan 2,76–6,54% (b/b). Hal ini menunjukkan bahwa teh hitam dominan sebagai sumber alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida, sedangkan daun beluntas sumber tanin.

Kamtekar dkk. (2014) menjelaskan bahwa senyawa polifenol dan flavonoid dapat menghasilkan radikal bebas dan mereduksi stress oksidasi. Mohan dkk. (2013) juga menambahkan bahwa alkaloid, tannin, flavonoid dan sterol dapat berfungsi sebagai antioksidan. Stanojević dkk. (2009) menyebutkan bahwa senyawa fenolik mempunyai aktivitas antioksidan karena mempunyai sifat redoks sehingga dapat berfungsi sebagai agen pereduksi, donor hidrogen, quenser oksigen singlet, dan pengkelat logam.

Total Fenolik



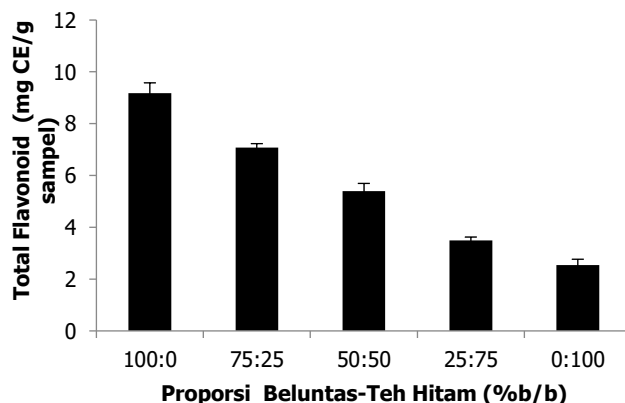
Gambar 1. Total fenolik minuman daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata \pm SD pada $\alpha = 5\%$)

Total fenolik minuman campuran daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 1. Data menunjukkan bahwa bertambahnya proporsi teh hitam secara signifikan ($\alpha=5\%$) menurunkan total fenolik minuman hingga proporsi daun beluntas teh hitam 25:75% (b/b), selanjutnya mengalami peningkatan pada minuman teh hitam dengan proporsi 100%. Namun peningkatan kadar total fenolik pada minuman teh hitam pada proporsi 100% tidak lebih tinggi dibandingkan minuman daun beluntas teh hitam pada proporsi 50:50% (b/b). Sesuai dengan data pada Tabel 1, ada dugaan bahwa senyawa tannin dominan berkontribusi terhadap peningkatan total fenol, namun demikian keberadaan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida juga memberikan kontribusi terhadap peningkatan total fenolik meskipun pengaruhnya relatif kecil. Senyawa tannin merupakan senyawa fenolik dengan berat molekul tinggi yang memiliki gugus fungsi hidroksil dan karbonil (Ashok dan Upadhyaya, 2012). Keberadaan gugus hidroksil yang tersubstitusi pada cincin benzena berkontribusi pada kemampuan senyawa fenolik melepaskan atom hidrogen dan terlibat reaksi redoks dengan reagen Folin Ciocalteus. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi pada

senyawa fenolik maka potensi senyawa tersebut untuk terlibat reaksi redoks semakin besar, seperti ditegaskan oleh Widyawati (2016a). Namun tidak menutup kemungkinan bahwa adanya interaksi antara gugus fungsi hidroksil yang ada pada minuman daun beluntas dan teh hitam pada jarak tertentu sehingga berakibat berkurangnya kemampuan gugus hidroksil yang terdapat dalam senyawa metabolit sekunder terlarut untuk mendonorkan atom hidrogen. Hal ini terlihat dari total fenolik minuman daun beluntas teh hitam yang semakin berkurang dengan semakin bertambahnya proporsi teh hitam yang digunakan.

Total Flavonoid

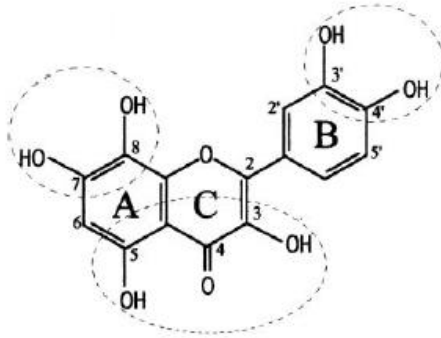
Total flavonoid minuman campuran daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 2. Data menunjukkan bahwa bertambahnya proporsi teh hitam menurunkan total flavonoid secara signifikan ($\alpha=5\%$). Penurunan total flavonoid seiring dengan pengujian kualitatif senyawa tannin dan total fenol, kecuali pada proporsi teh hitam 100%. Seperti ditegaskan oleh Tinkilic dan Uyanik (2001) bahwa kandungan tannin dalam ekstrak air panas dari teh, teh celup dan teh herbal relatif rendah. Peningkatan total flavonoid ini disebabkan senyawa flavonoid merupakan komponen terbesar senyawa fenolik. Seperti ditegaskan oleh Ashok dan Upadhyaya (2012) bahwa senyawa tannin merupakan senyawa fenolik yaitu polimer senyawa flavonoid dengan berat molekul tinggi yang kaya akan gugus fungsi hidroksil dan karbonil. Atanassova dkk. (2011) menginformasikan bahwa flavonoid bertanggung jawab terhadap kemampuan menangkalkan radikal bebas dan mengkelat ion logam.



Gambar 2. Total flavonoid minuman daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata \pm SD pada $\alpha = 5\%$)

Pontis dkk. (2014) menegaskan bahwa senyawa flavonoid yang terdeteksi pada pengujian ini adalah flavon dan flavonol. Frutos dkk. (2004) juga menyebutkan bahwa teh hitam banyak mengandung senyawa flavanol yaitu katekin dan turunannya, adanya fermentasi menyebabkan katekin teroksidasi yang menghasilkan polimer teaflavin dan tearubigin. Sedangkan daun beluntas seperti ditegaskan oleh

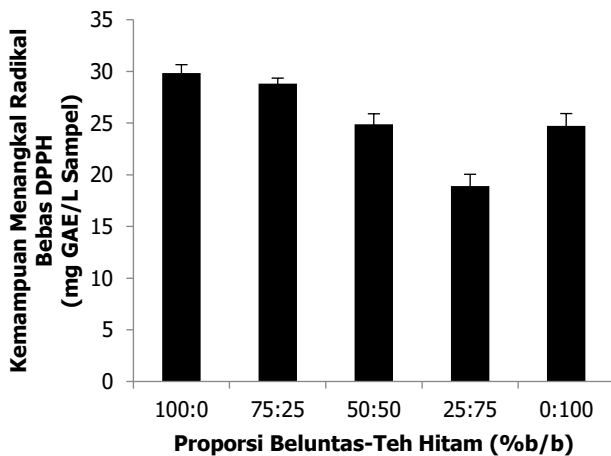
Andarwulan dkk. (2010) mengandung senyawa flavonoid kelompok flavonol yang meliputi: kaemferol, kuersetin dan mirisetin. Amic dkk. (2003) dan Tapas dkk. (2008) menyatakan bahwa keefektifan flavonoid sebagai antioksidan sangat ditentukan oleh adanya struktur (katekol) *ortho*-dihidroksi pada cincin B, ikatan rangkap pada C₂₋₃ yang terkonjugasi dengan gugus fungsi C₄ okso, gugus OH pada C₃ di cincin C, dan gugus OH pada C₅ di cincin A (Gambar 3). Kombinasi gugus C₃-OH dan C₅-OH dengan C₄-karbonil dan ikatan rangkap C₂₋₃ dapat meningkatkan aktivitas penangkap radikal bebas.



Gambar 3. Potensi flavonoid sebagai penangkap radikal (Amic dkk., 2003)

Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH

Kemampuan menangkal radikal bebas DPPH minuman campuran daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kemampuan menangkal radikal bebas DPPH minuman daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%)

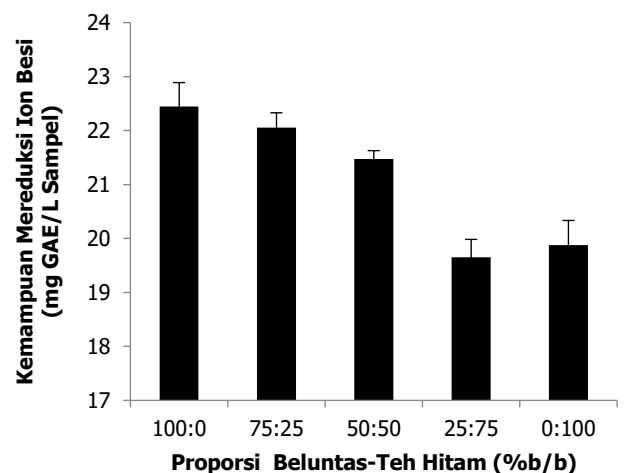
Data menunjukkan bahwa kemampuan menangkal radikal bebas DPPH minuman campuran daun beluntas dan teh hitam menurun signifikan (α=5%) dengan bertambahnya proporsi teh hitam, kecuali pada penggunaan 100% teh hitam terjadi peningkatan kembali. Pola grafik kemampuan menangkal radikal bebas DPPH ini seiring dengan pola grafik total fenol. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan menangkal

radikal bebas DPPH ditentukan oleh semua metabolit sekunder yang terdeteksi pada minuman campuran tersebut. Senyawa metabolit sekunder yang mempunyai kemampuan mereduksi pereaksi Folin Ciocalteus, yaitu mereduksi ion Mo⁶⁺ menjadi Mo⁵⁺ berpotensi terdeteksi (Keerthana dkk., 2013). Rohman dkk. (2010) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan juga dikontribusi oleh adanya metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak, seperti: minyak atsiri, karotenoid, dan vitamin. Rebaya dkk. (2014) dan Rohman dkk. (2010) menyatakan fenolik dan flavonoid adalah senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. Analisis korelasi antara kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dengan total fenolik dan total flavonoid ditunjukkan pada Gambar 6 dan 7. Korelasi antara total fenolik atau total flavonoid dengan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dinyatakan dengan koefisien determinasi (R²). Data menunjukkan bahwa korelasi dengan total fenolik diperoleh nilai R² = 0,981 dan total flavonoid diperoleh nilai R² = 0,631. Hasil menunjukkan bahwa senyawa fenolik dan total flavonoid memberikan kontribusi terhadap kemampuan menangkal radikal bebas masing-masing 98,1% dan 63,1%.

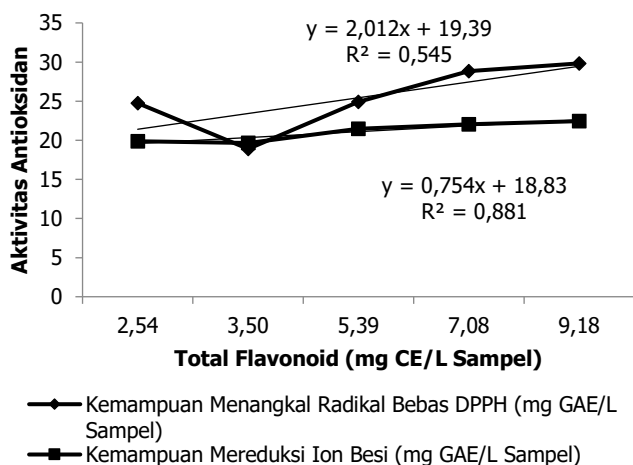
Kemampuan Mereduksi Ion Besi

Kemampuan mereduksi ion besi minuman campuran daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 5. Data menunjukkan bahwa peningkatan proporsi teh hitam menurunkan kemampuan mereduksi ion besi, hasil ini seiring dengan pengujian kemampuan menangkal radikal bebas DPPH.

Potensi minuman beluntas mereduksi ion besi sangat tergantung pada kemampuan metabolit sekunder mendonorkan elektron sehingga mengubah ion Fe³⁺ pada ion [Fe(CN)₆]³⁻ menjadi ion Fe²⁺ pada ion [Fe(CN)₆]⁴⁻ sehingga dihasilkan larutan berwarna biru Berlin setelah bereaksi dengan ion Fe³⁺ (Widyawati dkk., 2014a).

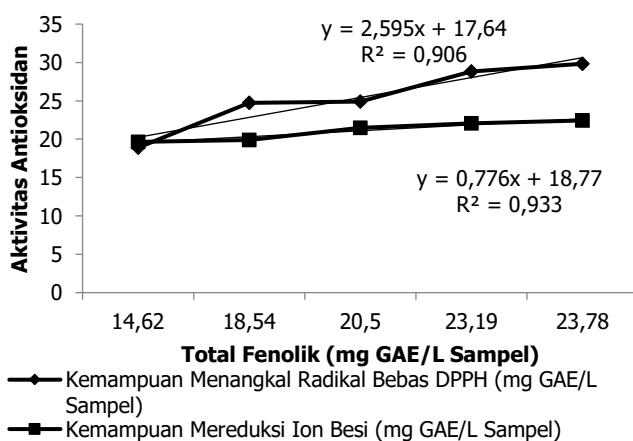


Gambar 5. Kemampuan mereduksi ion besi minuman daun beluntas teh hitam pada berbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%)



Gambar 6. Korelasi antara total flavonoid dengan aktivitas antioksidan (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%)

Kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dan kemampuan mereduksi ion besi dikontribusi oleh senyawa tannin pada daun beluntas. Rebaya dkk. (2014) menunjukkan bahwa ada korelasi antara aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS, dan FRAP) dengan kandungan senyawa tannin, terutama tannin terkondensasi. (Ashok dan Upadhyaya (2012) menyatakan bahwa tannin adalah kelompok senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil pengujian korelasi antara kemampuan mereduksi ion besi dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dengan total fenolik dan total flavonoid ditunjukkan pada Gambar 6 dan 7. Koefisien determinasi (R^2) antara total fenolik dan total flavonoid dengan kemampuan mereduksi ion besi masing-masing sebesar 0,933 dan 0,881, sedangkan koefisien determinasi (R^2) antara total fenolik dan total flavonoid dengan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH masing-masing sebesar 0,906 dan 0,545. Hal ini membuktikan bahwa kemampuan mereduksi ion besi dikontribusi oleh dan total flavonoid dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH ditentukan oleh total fenolik.



Gambar 7. Korelasi antara total fenolik dengan aktivitas antioksidan (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%)

KESIMPULAN

Perbedaan proporsi minuman campuran daun beluntas dan teh hitam menentukan aktivitas antioksidan. Semakin bertambah proporsi teh hitam menurunkan total fenolik, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH secara signifikan pada α=5%, kecuali pada proporsi teh hitam 100%. Pengujian total flavonoid dan kemampuan mereduksi ion besi mengalami penurunan signifikan pada α=5%. Pengujian ini seiring dengan hasil uji fitokimia bahwa semakin tinggi proporsi daun beluntas semakin tinggi intensitas uji kualitatif terhadap senyawa tannin. Senyawa tannin berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Metabolit sekunder yang terdeteksi pada minuman campuran daun beluntas dan teh hitam meliputi tannin, alkaloid, sterol, saponin, fenolik, flavonoid, dan kardiak glikosida. Semakin tinggi proporsi teh hitam, intensitas uji kualitatif senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida meningkat. Kemampuan menangkal radikal bebas DPPH lebih ditentukan oleh total fenolik, sedangkan kemampuan mereduksi ion besi dikontribusi oleh total fenolik dan total flavonoid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan yang diberikan dan Kemenristekdikti atas hibah penelitian produk terapan 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Temimi, A., & Choudhary, R. (2013). Determination of antioxidant activity in different kinds of plants in vivo and in vitro by using diverse technical methods. *Journal Nutrition of Food Science*, 3(1), 1-9. <http://doi.org/10.4172/2155-9600.1000184>.
- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D., & Trinajsti, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), 55-61. doi:10.1016/j.phytochem.2006.07.002.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., & Wijaya, H. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*, 121, 1231-1235. doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.033.
- Ardiansyah, Nuraida, L., & Andarwulan, N. (2003). Aktivitas antimikroba daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(2), 90-97.
- Ashok, P.K., & Upadhyaya, K. (2012). Tannins are astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(3), 45-50.
- Atanassova, M., Georgieva, S., & Ivancheva, K. (2011). Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46(1), 81-88.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.

- Lebensmittel-Wissenschaft und-Technology*, 28, 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Cabrera, C., Reyes, A., & Rafael, G. (2006). Beneficial effects of green tea: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99. <https://doi.org/10.1080/07315724.2006.10719518>
- Chanda, S., & Dave, R. (2009). In vivo models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An Overview. *African Journal of Microbiology Research*, 3(13), 981-996.
- Deetae, P., Parichanon, P., Trakunleewatthana, P., Chanseetis, C., & Lertsiri, S. (2012). Antioxidant and anti-glycation properties of Thai herbal teas in comparison with conventional teas. *Food Chemistry*, 133(3), 953-959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.012>
- Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F.G., & Mantecón, A.R. (2004). Review. Tannins and Ruminant Nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191-202.
- Gardjito, M., & Rahadian, D. (2015). *Teh*. Yogyakarta: PT Kanisius.
- Harborne, J. B. (1996). *Phytochemical Method*. Padmawinata K and Soediro I (Eds.). Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Kamtekar, S., Keer, V., & Patil, V. (2014). Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4 (09), 061-065. <http://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40911>
- Karori, S., Ngure, R.M., Wachira, F.N., Wanyoko, J.K., & Mwangi, J.N. (2008). Different types of tea products attenuate inflammation induced in *Trypanosoma brucei* infected mice. *Parasitology International*, 57(3), 325-333. <http://doi: 10.1016/j.parint.2008.02.003>
- Keerthana, G., Kalaivani, M.K., & Sumathy, A. (2013). In-Vitro alpha amylase inhibitory and anti-oxidant activities of ethanolic leaf extract of *Croton Bonplandianum*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 32-36. <http://dx.doi.org/10.22159/ijcpr.2017v9i2.17379>
- Leenen, R., Roodenburg, A.J.C., Tijburg, L.B.M., & Wiseman, S.A. (2000). A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54(1),87-92. <http://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600900>
- Maurya, P.K., & Rizvi, S.I. (2009). Protective role of tea catechins on erythrocytes subjected to oxidative stress during human aging. *Natural Product Research*, 23(12),1072-1079. <https://doi.org/10.1080/14786410802267643>
- Mohan, Y., Jesuthankaraj, G.N., & Thangavelu, N.R. (2013). Antidiabetic and antioxidant properties of *Triticum aestivum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Advances in Pharmacological Sciences*, 23(12),1072-1079. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/716073>
- Obanda, M., Owuor, P.O., Mang'oka, R., & Kavoi, M.M. (2004). Changes in thearubigin fractions and theaflavin levels due to variations in processing conditions and their influence on black tea liquor brightness and total colour. *Food Chemistry*, 85(2),163-173. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00183-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00183-8)
- Pontis, J.A., Costa, L.A.M.A., Silva, S.J.R., & Flach, A. (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Science and Technology Campinas*, 34(1), 69-73. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612014005000015>.
- Rebaya, A., Belghith, S.I., Baghdikian, B., Leddet, V.M., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J.K., & Ayadi, M.T. (2014). Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(01),052-057. <http://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50110>
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W. R., Utami, R., & Mulatsih, W. (2010). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*, 17, 97-106.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Song, J.M., Lee, K.H., & Seong, B.L. (2005). Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Research*, 68(2), 66-74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.06.010>
- Srisook, K., Buapool, D., Boonbai, R., Simmasut, P., Charoensuk, Y., & Srisook, E. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Pluchea indica* Less herbal tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(23),4077-4081. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.773>
- Stanojević, L., Stanković, M., Nikolić, V., Nikolić, L., Ristić, D., Brunet, J.C., & Tumbas, V. (2009). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* l. extracts. *Sensors*, 9(7), 5702-5714. <https://doi.org/10.3390/s90705702>
- Tapas, A., Sakarkar, D.M., & Kakde, R.B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089-1099.
- Tinkilic, N., & Uyanik, A. (2001). Spectrophotometric determination of the tannin contents of various Turkish black tea, beer and wine samples. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52(3), 289-294. <https://doi.org/10.1080/09637480120044147>
- Widyawati, P. S., Wijaya, C. H., Hardjosworo P.S., & Sajuthi, D. (2011). Evaluasi aktivitas antioksidatif ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) berdasarkan perbedaan ruas daun. *Rekapangan Jurnal Teknologi Pangan*, 5(1),1-14.
- Widyawati, P.S., Wijaya, C.H., Hardjosworo, P.S., & Sajuthi, D. (2012). Antioxidant activity of pluchea (*Pluchea indica* Less) leaves methanolic extract and its fractions. *Agritech*, 32(3), 249-257. <https://doi.org/10.22146/agritech.9618>
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A., & Wijaya, E.L. (2014a). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* Less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 850-855.
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A., Wijaya, E.L., Yaunatan, D.I., & Wongso, R.S. (2014b, November). Potency of beluntas (*Pluchea indica* Less) leaves extract as antioxidant and anti warmed over flavor (WOF) of duck meat. International congress challenges of biotechnological research in food and health, Surakarta, Indonesia.
- Widyawati, P.S. (2016a). Determination of antioxidant capacity in *Pluchea indica* Less leaves extract and its fractions. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(9), 32-36. <https://dx.doi.org/10.22159/ijpps.2016v8i9.11410>
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Utomo, A.R., & Harianto, I. (2016b). The physicochemical and antioxidant properties

of *Pluchea Indica* Less drink in tea bag packaging.
International Journal of Food and Nutritional Sciences, 5(3),
113-120.

Yam, T.S., Shah, S., & Hamilton-Miller, J.M.T. (1997).
Microbiological activity of whole and fractionated crude
extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components.
FEMS Microbiology Letters, 152(1),169-174.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb10424.x>