**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 Widyawati1), Tarsisius Dwi Wibawa Budianta1), Yesiana DW Werdani2), Maria Olivia Halim1)**

1)Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

2)Fakultas Keperawatan, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

\*Korespodensi Telp. +62-031-5678478/085-257725552, Fax : 031-5610818

Email : [wiwiedt@gmail.com](mailto:wiwiedt@gmail.com)

**Abstrak**

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari potensi minuman daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi sebagai antioksidan. 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 senyawa fitokimia, total fenol (TPC), total flavonoid (TFC), kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, dan kemampuan mereduksi ion besi. Data dianalisis secara statistik dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada α = 5%, jika terdapat beda signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Data dinyatakan dengan rata-rata ± standar deviasi. Hasil menunjukkan bahwa senyawa fitokimia yang terkandung dalam minuman daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, dan kardiak glikosida. Peningkatan proporsi teh hitam menambah intensitas senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kariak glikosida yang terdeteksi, tetapi kandungan senyawa tannin berkurang. Senyawa fitokimia ini berkorelasi dengan total fenol (TPC) dan total flavonoid (TFC). Peningkatan proporsi the hitam dalam minuman menurunkan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dan kemampuan mereduksi ion besi, kecuali pada propors teh hitam 100%. Kansungan 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 menunjukkan bahwa kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dominan dikontribusi oleh TPC dan kemampuan mereduksi ion besi ditentukan oleh TPC dan TFC.

Kata Kunci : *Pluchea* leaves, teh hitam dan antioksidan.

**Abstract**

The research was done to study the potency pluchea leaves-black tea drink at various proportions as antioxidant. The research used a single factor randomized block design. Research factor was 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 phytochemical compounds, total phenol, total flavonoids, free radical DPPH scavenging activity, and iron reducing power. The data were statistically analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) at α = 5%, if the analysis showed a significant effect then it was continued with Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Data was stated as mean ± standard deviation. The results showed that the phytochemical compounds 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 compounds contained were decreased. These phytochemical compounds were correlated with total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC). The increasing of black tea proportion in drink significant decreased DPPH free radical scavenging activity and iron ion reducing power, except at 100% black tea proportion. Tannin compounds content at drink determined antioxidant activity. Based on coefficient correlation between TPC or TFC and DPPH free radical scavenging activity or iron ion reducing power showed that DPPH free radical scavenging activity was dominant contributed by TPC and iron ion reducing power was determined by TPC and TFC.

**Keywords : Pluchea leaves, black tea, antioxidant**

**PENDAHULUAN**

Beluntas (*Pluchea indica* Less) adalah tanaman herba kelompok *Asteraceae*, telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, baik dalam bentuk ekstrak (Widyawati, 2016; Widyawati dkk., 2014a) maupun dalam bentuk seduhan (Widyawati dkk., 2016; Srisook dkk., 2012). Hal ini disebabkan daun beluntas mengandung sejumlah senyawa fitokimia, seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, tannin, sterol, fenol hidrokuinon, saponin, dan kardiak glikosida (Widyawati dkk., 2011; Widyawati dkk., 2014a; Ardiansyah dkk., 2013; 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 *et al*., 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, metal xantine, 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), antibakterial (Yam dkk., 1997), antidiabetik (Cabrera 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 senyawa fitokimia 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 aktivitas antioksidan minuman daun beluntas teh hitam (*Pluchea indica* less-*Camelia sinensis*).

**BAHAN DAN METODE**

**Bahan Baku dan Kimia**

Daun beluntas diperoleh dari kebun tanaman beluntas di daerah Manggrove, 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, Germany).* Kalium natrium tartrat tetrahidrat, radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrasil, asam gallat, (+)-katekin, dibeli dari *Sigma–Aldrich Company Ltd. (Gillingham, UK).* 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 tertentu (Widyawati dkk., 2011). Daun kemudian dikeringkan di suhu kamar dan dibubukkan dengan ukuran 40 mesh. Kadar air bubuk daun beluntas sebesar 13,05 ± 0,34 % (db). Sedangkan teh hitam yang sudah kering dibubukan dengan ukuran 40 mesh dengan kadar air sebesar 6,32 ± 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 2g untuk diseduh dalam 100 ml air mineral kemasan.

**Pembuatan Minuman Daun Beluntas Teh Hitam**

Setiap campuran bubuk daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi dalam kemasan kantong teh diseduh dengan air mineral suhu 95oC 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 Fitokimia**

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

**Analisis Total Fenol**

Total fenol (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) pada λ 760 nm, 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 Choundary (2013). Prinsip analisis ini adalah pembentukan senyawa kompleks asam yang stabil dari reaksi antara AlCl3 dan gugus okso pada cincin C4 dan gugus hidroksil pada cincin C3 atau C5 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*) pada λ 510 nm yang dinyatakan sebagai mg ekuivelen 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*) 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 Fe3+ menjadi ion Fe2+. Senyawa kompleks biru Berlin yang terbentuk ditentukan dengan spsktrofotometri UV-Vis (Shimadzu spectrophotometer UV-Vis 1700) 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 statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada α = 5%, jika analisa menunjukkan ada perbedaan signifikan dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Data dinyatakan dalam rata-rata ± standar deviasi.

**HASIL DAN DISKUSI**

**Komposisi Fitokimia**

Minuman campuran daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi teridentifikasi mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin dan kardiak glikosida (Tabel 1). Semakin besar proporsi teh hitam yang ditambahkan maka intensitas warna larutan yang menunjukkan adanya senyawa fitokimia alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida semakin bertambah, kecuali senyawa tanin. 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, sequenser oksigen singlet, dan pengkelat logam.

**Total Fenol**

Total fenol minuman campuran daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 1.

Gambar 1. Total fenol minuman daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%).

Data menunjukkan bahwa bertambahnya proporsi teh hitam secara signifikan (α= 5%) menurunkan total fenol minuman hingga proporsi daun beluntas teh hitam 25: 75%, selanjutnya mengalami peningkatan pada minuman teh hitam 100%. Jika didasarkan atas uji menunjukkan bahwa peningkatan total fenol seiring dengan hasil uji tannin. Senyawa tannin merupakan senyawa fenolik dengan berat molekul tinggi dengan gugus fungsi hidroksil dan karbonil (Ashok dan Upadhyaya, 2012). Sedangkan bertambahnya intensitas alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida yang terdeteksi pada minuman ini tidak meningkatkan total fenol. Data menunjukkan bahwa bertambahnya proporsi teh hitam secara signifikan (α= 5%) menurunkan total fenol minuman hingga proporsi daun beluntas teh hitam 25: 75%, saponin, dan kardiak glikosida yang terdeteksi pada minuman ini tidak meningkatkan total fenol.

**Total Flavonoid**

Total flavonoid minuman campuran daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 2. Data menunjukkan bahwa bertambahnya proporsi teh hitam menurunkan total flavonoid secara signifikan (α = 5%). Hasil ini seiring dengan pengujian kualitatif senyawa tannin dan total fenol, kecuali pada proporsi teh hitam 100%. selanjutnya mengalami peningkatan pada minuman teh hitam 100%. Jika didasarkan atas uji menunjukkan bahwa peningkatan total fenol seiring dengan hasil uji tannin. Senyawa tannin merupakan senyawa fenolik dengan berat molekul tinggi dengan gugus fungsi hidroksil dan karbonil (Ashok dan Upadhyaya, 2012). Sedangkan bertambahnya alkaloid, fenolik, flavonoid,

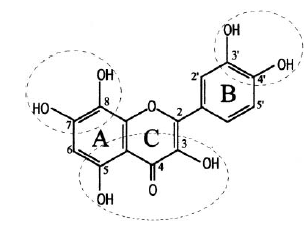
Tabel 1. Komposisi Fitokimia pada Minuman Campuran Daun Beluntas Teh Hitam Diberbagai Proporsi

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Senyawa Fitkomia | 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

Atanassova dkk. (2011) menginformasikan bahwa flavonoid bertanggung jawab dari pengaruh radikal bebas berdasarkan kemampuannya menangkal radikal bebas dan mengkelat ion logam. Pontis dkk. (2014) said that senyawa flavonoid yang terdeteksi pada pengujian ini adalah flavon dan flavonol. Frutos dkk. (2012) menyebutkan bahwa teh hitam banyak mengandung katekin dan turunannya, adanya fermentasi menyebabkan katekin teroksidasi Andarwulan dkk*.* (2010) telah membuktkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun beluntas kelompok flavonol, meliputi : kaemferol, kuersetin dan mirisetin. menghasilkan polimer teaflavin dan tearubigin. 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

Gambar 2. Total flavonoid minuman daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%).



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

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. Kombinasi gugus C3-OH dan C5-OH dengan C4-karbonil dan ikatan rangkap C2-3 dapat meningkatkan aktivitas penangkap radikal bebas.

**Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH**

Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH minuman campuran daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi ditunjukkan pada Gambar 4.

Gambar 4. Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH minuman daun beluntas teh hitam diberbagai proporsi (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%).

Data menunjukkan bahwa kemampuan menangkal radikal bebas DPPH minuman campuran daun beluntas 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 senyawa fitokimia yang terdeteksi pada minuman campuran tersebut. Senyawa fitokimia 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 senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak, seperti : mnyak 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 fenol dan total flavonoid ditunjukkan pada Gambar 6 dan 7. Korelasi antara total fenol atau total flavonoid dengan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dinyatakan dengan koefisien determinasi (R2). Data menunjukkan bahwa korelasi dengan total fenol 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 diberbagai 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.

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

Potensi minuman beluntas mereduksi ion besi sangat tergantung pada kemampuan senyawa fitokimia 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 6. Korelasi antara total fenol dengan aktivitas antioksidan (Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD pada α=5%).

Gambar 7. Korelasi antara total fenol 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 condensed tannin. Tannin adalah kelompok senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas antioksidan (Ashok dan Upadhyaya, 2012). Hasil pengujian korelasi antara kemampuan mereduksi ion besi dengan total fenol dan total flavonoid ditunjukkan pada Gambar 6 dan 7. Koefisien determinasi (R2) antara total fenol dan total flavonoid dengan kemampuan mereduksi ion besi masing-masing sebesar 0,895 dan 0,90. Hal ini membuktikan bahwa kemampuan mereduksi ion besi dikontribusi oleh total fenol dan total flavonoid.

**KESIMPULAN**

Perbedaan proporsi minuman campuran daun beluntas teh hitam menentukan aktivitas antioksidan. Semakin bertambah proporsi teh hitam menurunkan total fenol, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH secara signifikan pada α=5%, kecuali pada proporsi teh hitam 100%. Sedangkan 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. Senyawa fitokimia yang terdeteksi pada minuman campuran daun beluntas the hitam meliputi tannin, alkaloid, sterol, saponin, fenolik, flavonoid, dan kardiak glikosida. Semakin tinggi proporsi the hitam intensitas uji kualitatif senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kardiak glikosida meningkat. Kemampuan menagkal radikal bebas DPPH lebih ditentukan oleh total felon, sedangkan

kemampuan mereduksi ion besi dikontribusi oleh total fenol 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. dan 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**: 1-9.

Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D. dan Trinajsti, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta* **76**(1): 55-61.

Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B. dan Wijaya, H. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry* **121**: 1231-1235.

Ardiansyah, Nuraida, L. dan 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. dan Upadhyaya, K. (2012). Tannins are astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **1**(3): 45-50.

Atanassova, M., Georgieva, S. dan 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. dan Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technology* **28**: 25-30.

Cabrera, C., Reyes, A. dan Rafael, G. (2006). Beneficial effects of green tea: A review. *Journal of the American College of Nutrition* **25**(2): 79-99.

Chanda, S. dan 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.

Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F.G. dan Mantecón, A.R. (2004). Revew. Tannins and Ruminant Nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* **2**(2): 191-202.

Gardjito, M. dan Rahadian, D. 2015. *Teh*. PT Kanisius, Yogyakarta.

Harborne J B. (1996). *Phytochemical Method.* Padmawinata K and Soediro I (Eds.), Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Kamtekar, S., Keer, V. dan 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): 61-65.

Karori, S., Ngure, R.M., Wachira, F.N., Wanyoko, J.K. dan Mwangi, J.N. (2008). Different types of tea products attenuate inflammation induced in *Trypanosoma brucei brucei-*infected mice. *Parasitology International* **57**: 325-333.

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**(Suppl 4): 32-36.

Leenen, R., Roodenburg, A.J.C., Tijburg, L.B.M. dan 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**: 87-89.

Maurya, P.K. dan 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.

Mohan, Y., Jesuthankaraj, G.N. dan Thangavelu, N.R. (2013). Antidiabetic and antioxidant properties of *Triticum aestivum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Advances in Pharmacological Sciences* **2013**(2013): 1-9.

Obanda, M., Owuor, P.O., Mang’oka, R. dan 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**: 163-173.

Pontis, J.A., Costa, L.A.M.A., Silva, S.J.R., dan 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.

Rebaya, A., Belghith, S.I., Baghdikian, B., u Leddet, V.M., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J.K. dan Ayadi, M.T. (2014). Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). Journal of Applied Pharmaceutical Science. **5**(1): 052-057.

Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W. R., Utami, R. dan Mulatsih, W. (2010). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavaonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal* **17**: 97-106.

Singleton, V. L., Orthofer, R. dan Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin– ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, **99**: 152-178.

Song, J.M., Lee, K.H. dan Seong, B.L. (2005). Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Research* **68**: 66-74.

Srisook, K., Buapool, D., Boonbai, R., Simmasut, P., Charoensuk, Y. dan 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.

Stanojević, L., Stanković, M., Nikolić, V., Nikolić, L., Ristić, D., Brunet, J.C. dan Tumbas, V. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Hieracium pilosella* L. Extracts. *Sensors*  **9**: 5702-5714.

Tapas, A., Sakarkar, D.M. dan Kakde, R.B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **7**(3) : 1089-1099.

Widyawati, P. S., Wijaya, C. H., Hardjosworo P.S. and Sajuthi, D. (2011). Evaluasi aktivitas antioksidatif ekstrak daun beluntas (*Pluchea* *indicia* Less) berdasarkan perbedaan ruas daun. *Rekapangan Jurnal* *Teknologi Pangan* 5(1):1-14.

Widyawati, P.S., Wijaya, C.H., Hardjosworo, P.S. dan Sajuthi, D. (2012). Antioxidant activity of pluchea (*Pluchea indica* Less) leaves methanolic extract and its fractions. *Agritech* **32**(3) : 249-257.

Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A. dan 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. dan Wongso, R.S. (2014). 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, 15th November 2014.

Widyawati, P.S. (2016). Determination of antioxidant capacity in *Pluchea indica* Less leaves extract and its fractions. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **8**(issue 9): 32-36.

Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Utomo, A.R., and Harianto, I. 2016. 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. dan 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**: 169-174.