

PENGARUH PENAMBAHAN MADU TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN BELUNTAS-TEH HITAM DENGAN PERBANDINGAN 25:75% (B/B)

(Honey addition effect of antioxidant activity Pluchea indica Less-black drink at 25:75% (w/w) proportion)

Eunike Intar D.^{a*}, Paini Sri Widyawati^a, T. Dwi Wibawa Budianta^a

^a Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

* Penulis korespondensi

Email: eun.nike_intar@hotmail.com

ABSTRACT

Pluchea indica Less plant usually only used as fresh vegetables and traditional medicine. Beluntas leaf contains many phytochemical compounds that act as antioxidants to prevent free radical. One of alternative utilization beluntas leaf is used as a drink that was packed in tea bag which is substituted black tea at 25: 75% (w/w) proportion and the addition of honey. This research was aimed to determine honey additon effect of antioxidants activity in Pluchea indica Less-black tea drink. The research design used was randomized block design with single factor. Factor that was researched is honey addition (P1, P2, P3, P4, P5, P6) on Pluchea indica Less-black tea drink at 25:75% (w/w) proportion. Each treatment was repeated four times. The results showed that honey additon effect of antioxidants activity in Pluchea indica Less-black tea drink. The addition of honey in Pluchea indica Less-black tea drink with various concentrations produced the total phenols ranged from 481.06-632.94 mg GAE/L sample, the total flavonoids ranged from 156.18-196.80 mg CE/L sample, the DPPH free radical scavenging activity ranged from 324.13-389.49 mg GAE/L sample, and the iron ion reducing power ranged from 304.80-401.80 mg GAE/L sample. The antioxidant activity of Pluchea indica Less-black tea honey drink positively correlated with total phenols and total flavonoids. The addition honey in Pluchea indica Less-black tea drink to get the highest antioxidant activity was P6 that had the highest total phenol and flavonoid.

Keywords: *beluntas leaves, black tea, honey, beverage, antioxidant*

ABSTRAK

Pluchea indica Less. biasanya hanya digunakan sebagai lalapan dan obat tradisional. Daun beluntas mengandung banyak senyawa fitokimia yang berperan sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Salah satu alternatif pemanfaatan daun beluntas adalah dijadikan minuman yang dikemas dalam *tea bag* yang disubstitusi teh hitam dengan perbandingan 25:75% (b/b) dan penambahan madu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan madu terhadap aktivitas antioksidan minuman beluntas-teh hitam. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor. Faktor yang diteliti adalah penambahan madu (P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, P₆) pada minuman beluntas-teh hitam dengan perbandingan 25:75% (b/b). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh penambahan madu terhadap aktivitas antioksidan minuman beluntas-teh hitam. Penambahan madu pada minuman beluntas-teh hitam dengan berbagai konsentrasi menghasilkan total fenol berkisar 481,06-632,94 mg GAE/L sampel, total flavonoid berkisar 156,18-196,80 mg CE/L sampel), kemampuan menangkal radikal bebas DPPH berkisar 324,13-389,49 mg GAE/L sampel, dan kemampuan mereduksi ion besi berkisar 304,80-401,80 mg GAE/L sampel. Aktivitas antioksidan minuman beluntas-teh hitam madu berkorelasi positif dengan total fenol dan total flavonoid. Penambahan madu yang paling tepat pada minuman beluntas-teh

hitam agar diperoleh aktivitas antioksidan tertinggi adalah P6 yang memiliki total fenol dan total flavonoid tertinggi.

Kata kunci: daun beluntas, teh hitam, madu, minuman, antioksidan

PENDAHULUAN

Daun beluntas mengandung banyak senyawa fitokimia seperti lignin, terpena, fenilpropanoid, benzoat, alkana, sterol, 2-(pro-1-unil)-5-(5,6-dihidroksi hexa-1,3,diunil)-thiofena, (-)-katekin, alkaloid, saponin, tanin, fenol, hidrokuionon, flavonoid, kardiak glikosida, flavonol (kuarsitin, kaemferol, miricetin) (Widyawati dkk., 2015). Senyawa aktif tersebut dapat berfungsi sebagai zat antioksidan yang baik bagi tubuh manusia. Halim (2015) melakukan pensubtitusian daun beluntas dalam produk minuman teh hitam dengan harapan dapat meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan beluntas dalam produk minuman teh hitam. Berdasarkan penelitian Halim (2015), perlakuan terbaik adalah minuman teh daun beluntas dengan proporsi beluntas dan teh hitam sebesar 25:75% (b/b). Akan tetapi, aktivitas antioksidannya menurun dibandingkan dengan minuman teh beluntas dengan proporsi beluntas dan teh hitam 100:0% (b/b). Oleh karena itu, perlu penambahan bahan pangan lain dalam formulasi minuman teh hitam-beluntas untuk mendapatkan aktivitas antioksidan yang terbaik pada proporsi beluntas dan teh hitam (25:75% (b/b)), yaitu madu. Madu kaya akan komponen fenolik, asam askorbat, tokoferol, katalase, dan flavonoid (Aliyu *et al.*, 2012).

Dilakukan uji organoleptik pendahuluan pada berbagai konsentrasi dengan *range* yang besar. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap rasa mengalami kenaikan namun pada konsentrasi yang lebih tinggi mengalami penurunan tingkat kesukaan. Kemudian, dilakukan uji organoleptik kembali menggunakan konsentrasi madu dengan *range* yang kecil

dan didapatkan hasil penambahan madu tiga konsentrasi tertinggi tidak berbeda nyata, serta tiga konsentrasi yang paling tinggi dinilai terlalu manis bagi panelis. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan madu dengan berbagai konsentrasi dalam *range* lebih kecil lagi dan dilakukan uji lanjutan terhadap parameter aktivitas antioksidannya melalui uji fitokimia, total fenol, total flavonoid, kemampuan mereduksi ion besi, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan minuman beluntas-teh hitam madu adalah daun beluntas, teh hitam kering lokal kualitas premium, madu randu merek "Madu Murni Nusantara, air minum dalam kemasan "Aquase", dan *tea bag*.

Bahan kimia untuk analisis yang digunakan terdiri dari metanol (CH₃OH), etanol (C₂H₆O) (J.T. Baker), etil asetat (J.T. Baker), heksana (J.T. Baker), akuades (PT. Mega Sejahtera Scientific), akuabides, kloroform (Merck), ammonia (NH₃) (Mallinckrodt), asam sulfat (H₂SO₄) 95-97% (Merck), merkuri (II) klorida (HgCl₂) (PT. Brataco), kalium iodida (KI) (Merck), serbuk iodin (I₂) (Merck), kristal natrium hidroksida (NaOH) (Merck), eter (PT. Brataco), asam asetat glasial (C₂H₄O₂) (Merck), asam klorida (HCl) 37% (Merck), n-amil alkohol (Merck), serbuk magnesium (Mg) (Merck), besi (III) klorida (FeCl₃) (Merck), Kalium Na-Tartrat-Tetrahidrat (Sigma-Aldrich), tembaga (II) sulfat (Cu₂SO₄) (Merck), natrium karbonat (Na₂CO₃) (Riedel-deHaën), asam kloroasetat (ClCH₂COOH) (Merck), asam galat (Riedel-deHaën), *Folin-Ciocalteu* (Merck), (+)-katekin (Sigma), natrium nitrit (NaNO₂) (Merck), aluminium

klorida (AlCl_3) (Schuchardt OHG), natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) (Merck), dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) (Merck), kalium ferrisianida ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$) (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma), metanol (CH_3OH) (J.T. Baker), asam oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) (Merck), kertas saring kasar, kertas lensa (KOKAii), aluminium foil, dan plastik PE (polyethylene).

Kadar Air

Analisis kadar air adalah penguapan air dalam sampel dengan cara pemanasan pada suhu dan tekanan tertentu menggunakan oven vakum selama 2 jam. Persentase kadar air dihitung dalam bentuk *dry basis* (AOAC, 2005).

Identifikasi Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia diidentifikasi secara kualitatif dengan uji analisis yang terdiri dari analisis senyawa alkaloid, analisis flavonoid dan fenolik, analisis triterpenoid dan sterol, analisis flavonoid, saponin, dan tanin, serta analisis kardiak glikosida (uji fehling) (Harborne, 1996).

Kadar Total Fenol

Total fenol ditentukan dengan metode spektrofotometri yang absorbansi larutannya diukur dengan λ 760 nm. Hasil kadar total fenol dinyatakan dalam mg GAE/L sampel (Mc Donald *et al.*, 2001).

Kadar Total Flavonoid

Total flavonoid ditentukan dengan metode spektrofotometri yang absorbansi larutannya diukur dengan λ 510 nm. Hasil kadar total flavonoid dinyatakan dalam mg CE/L sampel (Al-Temimi dan Choundary, 2013).

Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH

Kemampuan menangkal radikal bebas DPPH ditentukan dengan metode spektrofotometri yang absorbansi larutannya diukur dengan λ 515 nm. Hasil

kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dinyatakan dalam mg GAE/L sampel. (Sompong *et al.*, 2011).

Kemampuan Mereduksi Ion Besi

Kemampuan mereduksi ion besiditentukan dengan metode spektrofotometri yang absorbansi larutannya diukur dengan λ 700 nm. Hasil kemampuan mereduksi ion besi dinyatakan dalam mg GAE/L sampel (Al-Temimi dan Choundary, 2013).

Analisis Statistik

Rancangan penelitian yang digunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor, yaitu penambahan madu pada minuman beluntas-teh hitam yang terdiri dari 6 (enam) taraf perlakuan, yaitu P_1 , P_2 , P_3 , P_4 , P_5 , P_6 . Setiap perlakuan pada sampel dilakukan masing-masing pengulangan sebanyak 4 (empat) kali pada hari yang berbeda. Data yang diperoleh dari masing-masing pengujian dianalisis menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada $\alpha=5\%$ untuk mengetahui adanya pengaruh nyata pada setiap parameter. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda jarak nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha=5\%$ untuk menentukan taraf perlakuan yang memberikan perbedaan nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji kadar air bubuk daun beluntas adalah 14,96% untuk basis kering, sedangkan kadar air bubuk teh hitam sebesar 6,10% untuk basis kering. Kadar air diperlukan karena persentase kadar air dapat mempengaruhi kualitas seduhan teh dan jumlah senyawa fitokimia yang terlarut.

Hasil penelitian pada Tabel 1. menunjukkan senyawa fitokimia yang terdapat dalam minuman beluntas-teh hitam madu pada semua perlakuan adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin,

dan kardiak glikosida dengan intensitas yang berbeda. Pada semua perlakuan tidak terdeteksi senyawa triterpenoid dan sterol pada minuman beluntas-teh hitam madu. Hal ini dikarenakan triterpenoid dan sterol merupakan senyawa yang bersifat nonpolar, sehingga tidak bisa terekstrak oleh pelarut air selama penyeduhan berlangsung.

Kandungan total fenol pada sampel meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi madu yang ditambahkan. Diduga pengujian total fenol dengan metode *Folin Ciocalteu* tidak spesifik untuk senyawa polifenol saja seperti senyawa fenolik, flavonoid, saponin, tanin, gula reduksi yang teridentifikasi di uji fitokimia, tetapi beberapa senyawa lainnya yang dapat teroksidasi oleh pereaksi *Folin Ciocalteu* juga dapat terdeteksi seperti vitamin, protein, asam organik, enzim-enzim, dan senyawa-senyawa mailard.

Total flavonoid sampel mengalami peningkatan signifikan sama seperti pola grafik pada total fenol dan sesuai dengan hasil analisis identifikasi senyawa fitokimia yaitu adanya senyawa flavonoid secara kualitatif. Diduga adanya asam-asam organik pada madu yang mempengaruhi reaksi hidrolisis dan terbentuknya ikatan glikosida atau ester dapat meningkatkan total flavonoid. Oleh karena itu, penambahan total flavonoid pada sampel

setelah penambahan madu lebih tinggi dibandingkan kontrol pada konsentrasi yang sama.

Tabel 1. Senyawa Fitokimia dalam Minuman Beluntas-Teh Hitam Madu pada Berbagai Konsentrasi Madu

Senyawa Fitokimia	Perlakuan					
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆
Alkaloid	+2	+2	+2	+3	+3	+3
Flavonoid	+1	+2	+2	+3	+3	+4
Fenolik	+2	+2	+2	+3	+3	+3
Saponin	+2	+2	+3	+3	+4	+5
Tanin	+2	+3	+3	+3	+4	+4
Triterpenoid	-	-	-	-	-	-
Sterol	-	-	-	-	-	-
Kardiak Glikosida	+1	+2	+3	+4	+5	+5

Penambahan madu dapat mempengaruhi kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dan hasil uji statistik menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi madu yang ditambahkan pada minuman beluntas-teh hitam memberikan perbedaan yang nyata terhadap kemampuan menangkal radikal bebas DPPH. Kemampuan menangkal radikal bebas dipengaruhi oleh adanya total fenol dan flavonoid yang terkandung dalam sampel. Senyawa lain seperti enzim-enzim dan asam organik dalam madu, serta interaksi sinergisme senyawa dalam madu dan beluntas-teh hitam juga dapat mendukung kemampuan aktivitas antioksidan. Didapatkan kemampuan aktivitas antioksidan tertinggi adalah P₆.

Tabel 2. Hasil Uji Total Fenol, Total Flavonoid, Kemampuan Menangkal Radikal bebas DPPH, dan Kemampuan Mereduksi Ion Besi

Perlakuan	Total Fenol (mg GAE/L) ±SD	Total Flavonoid (mg CE/L) ±SD	Aktivitas Antioksidan (mg GAE/L) ±SD	Reduksi Ion Besi (mg GAE/L) ±SD
P ₁	481,1 ^a ±44,2	156,2 ^a ±4,2	324,1 ^a ±7,9	304,8 ^a ±15,1
P ₂	509,2 ^a ±28,2	161,1 ^b ±1,5	337,1 ^b ±7,4	307,6 ^a ±23,0
P ₃	522,6 ^a ±29,5	167,0 ^c ±1,9	348,5 ^{bc} ±6,4	338,1 ^{ab} ±19,3
P ₄	596,7 ^b ±54,1	171,7 ^d ±4,7	351,6 ^c ±8,8	345,3 ^b ±13,6
P ₅	614,2 ^b ±17,0	180,8 ^e ±1,8	357,3 ^c ±11,9	359,3 ^b ±28,4
P ₆	632,9 ^b ±63,6	196,8 ^f ±3,8	389,5 ^d ±10,7	401,8 ^c ±36,2

Keterangan: Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Kemampuan sampel dalam mereduksi ion besi berkisar antara 304,80-401,80 mg GAE/L sampel. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi madu yang ditambahkan memberikan

perbedaan yang nyata terhadap kemampuan mereduksi ion besi. Hasil uji Duncan menunjukkan P₆ paling berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dan memiliki kemampuan mereduksi ion besi

tertinggi yaitu 401,80 mg GAE/ L sampel. Kemampuan mereduksi ion besi dipengaruhi oleh jumlah atau konsentrasi senyawa fitokimia yang dapat mendonorkan elektron, seperti kardiak glikosida, fenol, flavonoid dalam madu, beluntas, dan teh hitam.

KESIMPULAN

Konsentrasi madu yang ditambahkan dalam minuman beluntas-teh hitam menghasilkan total fenol berkisar 481,06-632,94 mg GAE/L sampel, total flavonoid berkisar 156,18-196,80 mg CE/L sampel, aktivitas antioksidan metode DPPH berkisar 324,13-389,49 mg GAE/L sampel, dan kemampuan mereduksi ion besi berkisar 305,80-401,80 mg GAE/L sampel. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan yang tepat agar diperoleh aktivitas antioksidan tertinggi adalah P₆ yang menghasilkan total fenol dan total flavonoid tertinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas dana penelitian melalui program Penelitian Hibah Bersaing 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Aliyu, M., O. A. Odunola, A. D. Farooq, A. M. MESAIK, M. I. Choudhary, O. L. Erukainure, S. Perveen, and A. Jabeen. 2012. Fractionation of Acacia Honey Affects its Antioxidant Potential in vitro. *J. Acute Disease*. 1(2):115-119. http://ac.els-cdn.com/S222161891360027X/1-s2.0-S222161891360027X-main.pdf?_tid=fd5b5a2a-862d-11e5-bf1c-00000aab0f6c&acdnat=1446996958_dc397b423c8a8562f3eb072c61ca136c (10 Agustus 2015).
- Al-Temimi, A. and R. Choudhary. 2013. Determination of Antioxidant Activity In Different Kinds of Plants In Vivo And In Vitro By Using Diverse Technical Methods. *J.Nutr. Food Sci*.3:1-9. <http://www.omicsonline.org/determination-of-antioxidant-activity-in-different-kinds-of-plants-in-vivo-and-in-vitro-by-using-diverse-technical-methods-2155-9600.1000184.php?aid=11036> (10 Agustus 2015).
- AOAC. 2005. *Method of Analysis*. Washington: Association of Official Analytical Chemistry. USA: AOAC International. Hal 979.12.
- Halim, M. O. 2015. Pengaruh Proporsi Tepung Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*) dan Teh Hitam Terhadap Sifat Fisikokimia, Sifat Organoleptik, dan Aktivitas Antioksidan Produk Minuman, Skripsi S-1, Fakultas Teknologi Pertanian UKWMS, Surabaya.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Institut Teknologi Bandung-Press. Hal 153.
- McDonald, S., P. D. Prenzler, M. Antolovich, and K. Robards. 2001. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts. *J.Food Chem*.73: 73-84. http://ac.els-cdn.com/S0308814600002880/1-s2.0-S0308814600002880-main.pdf?_tid=72295fda-863a-11e5-9339-00000aab0f26&acdnat=1447002308_095899a87851c1937962b997f8ebdfef (10 Agustus 2015).
- Sompong, R., S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin, and E. Berghofer. 2011. Physicochemical and Antioxidative Properties of Red and Black Rice Varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *J.Food Chem*.124:132-140. <http://ac.els-cdn.com/S0308814610006989/1-s2.0->

S0308814610006989-
main.pdf?_tid=9e38a246-8646-11e5-
8380-
00000aab0f27&acdnat=1447007536_
2a09e4e6638af0ba9fb26bcb996c6e7
1 (12 Agustus 2015).

Widyawati, P. S., T. D. W. Budianta, D. I.
Gunawan, and R. S. Wongso. 2015.

Evaluation Antidiabetic Activity of
Various Leaf Extracts of *Pluchea
indica* Less. J. Pharmac.and
Phytochem. 7(3):597-603.
<http://ijppr.com/PDF/7/IJPPR,Vol7,Issue3,Article35.pdf> (5 November 2015).