

Pengaruh Proses Pembuatan *Tisane* “Wedang Uwuh” terhadap Kandungan Polifenol dan Aktifitas Penangkap Radikal Bebasnya

Effect of "Wedang Uwuh" Tisane Preparation on Its Polyphenol Contents and Free Radical Scavenging Activity

Hidayah Anisa Fitri^{1*}, Catur Okta Pamungkasih²

¹ Department of Pharmaceutical Biology, Faculty of Pharmacy,
Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Jl. Raya KH Ahmad Dahlan, Kembaran, Purwokerto 53182, Indonesia.

² Faculty of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya KH Ahmad Dahlan, Kembaran, Purwokerto 53182, Indonesia.

*Corresponding author email: hidayah.anisa.f@ump.ac.id

Received 14-01-2022 Accepted 02-08-2022 Available online 26-08-2022

ABSTRAK

Tisane merupakan suatu istilah yang merujuk pada teh herbal, yaitu sediaan teh yang terbuat dari satu bagian atau campuran simplisia yang umumnya dibuat dengan cara diseduh dengan air panas ataupun direbus sebagai minuman kesehatan atau untuk pengobatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, proses preparasi yang berbeda dalam pembuatan beberapa jenis *tisane* dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif dan aktifitas antioksidannya. Wedang uwuh merupakan salah satu jenis *tisane* asli dari Indonesia yang telah diketahui kaya akan rempah dan senyawa antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa proses preparasi *tisane* wedang uwuh terhadap kandungan senyawa polifenolnya, serta aktifitas penangkap radikal bebasnya. Uji kandungan senyawa aktif dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan metode kolorimetri $AlCl_3$. Sedangkan uji aktifitas penangkap radikal bebasnya menggunakan metode DPPH. Berdasarkan data yang diperoleh diketahui bahwa preparasi *tisane* dengan metode panas dapat meningkatkan kandungan senyawa polifenolnya. Namun tidak terdapat korelasi yang positif antara tingginya kandungan senyawa polifenol dalam *tisane* uji dengan aktifitas penangkap radikal bebasnya.

Kata kunci: DPPH, flavonoid, senyawa fenolik, wedang uwuh.

ABSTRACT

Tisane is an herbal tea made from a part or mixture of dried plants or herbs. Tisanes are generally made by brewing dried materials in hot water or boiling it as a health drink or

for medication. Different making processes of several types of tisane were known affecting their active compounds and antioxidant activity. "Wedang uwuh" is one of Indonesia's original tisanes, which is rich in spices and antioxidant compounds. This study aimed to determine the effect of several preparation processes of wedang uwuh on its active compound content and free radical scavenging activity. The active compound content test was carried out using the Folin-Ciocalteu method and the $AlCl_3$ colorimetric method. Meanwhile, the free radical scavenging activity was tested using DPPH method. Based on the data obtained, it was known that hot preparation increased its polyphenolic compounds in tisanes but did not positively correlate with its radical scavenging activity.

Keywords: DPPH, flavonoids, phenolic compounds, preparation, wedang uwuh.

Pendahuluan

Tisane merupakan suatu istilah yang merujuk pada teh herbal, yaitu teh yang terbuat dari satu bagian atau campuran bagian tanaman seperti daun, biji, bunga, kulit batang dan atau akar akaran dari berbagai jenis tanaman yang dikeringkan dan diseduh dengan air. Meskipun nama lain *tisane* adalah "teh" herbal dan memiliki proses atau cara penyajian yang sama dengan teh biasa, namun *tisane* tidak selalu mengandung bagian tanaman dari *Camellia sinensis*, yaitu tumbuhan yang secara luas digunakan untuk membuat teh atau *tea*. Ada berbagai macam jenis *tisane* di seluruh dunia yang dibuat dan dikonsumsi untuk berbagai macam keperluan. Secara umum tujuan konsumsi teh herbal adalah untuk pengobatan suatu penyakit atau sebagai minuman untuk menjaga kesehatan (Ravikumar, 2014).

Salah satu jenis *tisane* sebagai minuman untuk menjaga kesehatan yang cukup populer di Indonesia adalah "wedang uwuh". Wedang uwuh berasal dari bahasa jawa yang artinya minuman

sampah (wedang: minuman; uwuh : sampah). Disebut sebagai minuman sampah karena apabila dilihat secara sekilas, wedang uwuh yang tidak disaring terlihat seperti seduhan sampah berbagai bagian tanaman yang dikeringkan. Namun berkebalikan dengan namanya, wedang uwuh merupakan *tisane* yang bermanfaat untuk menyehatkan tubuh dan dapat mencegah kanker karena mengandung senyawa antioksidan yang tinggi (Rahmawati, 2011).

Senyawa antioksidan dalam wedang uwuh berasal dari komponen bagian tanaman kering penyusunnya yang kaya akan senyawa polifenol. Meskipun sampai saat ini tidak ada formula paten wedang uwuh, namun pada dasarnya bahan utama penyusun wedang uwuh terdiri dari kayu secang, jahe, daun pala, daun kayu manis, dan daun atau bunga cengkeh. Terkadang ditambahkan rempah rempah lain seperti serai dan kapulaga untuk menambah aroma dan rasa pedas. Sedangkan untuk memberikan rasa manis digunakan gula batu. Berdasarkan

beberapa penelitian yang telah dilakukan, bahan-bahan yang digunakan untuk membuat wedang uwuh secara saintifik mengandung senyawa polifenol dan memiliki aktifitas antioksidan termasuk di dalamnya aktifitas penangkap radikal bebas (Sinsawasdi,2012; R. & Prakash, 2010; Akinboro *et al.*,2011; Wu *et al.*,2013; Deepa *et al.*,2013; Munisa *et al.*,2012; Kim *et al.*,2011; Asimi *et al.*,2013; Saleh & Kamel.,2011).

Pada umumnya *tisane* dibuat dengan menggunakan air panas atau hangat, atau dilakukan proses perebusan bila diperlukan. Namun berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perbedaan proses preparasi seperti suhu dan lama waktu penyeduhan, menyebabkan perubahan sifat fisik, sensoritas, dan aktifitas antioksidan *tisane* seperti pada jenis teh paochung (Chiang *et al.*, 2020). Pada *tisane* mistletoe yang secara tradisional digunakan untuk terapi penyakit kardiovaskular, adanya proses pemanasan menyebabkan beberapa senyawa aktif terdegradasi sehingga berpotensi dapat ikut mempengaruhi aktifitas farmakologinya (Jager *et al.*,2011). Hal ini menunjukkan bahwa proses preparasi atau penyajian *tisane* merupakan salah satu faktor penting karena sangat mempengaruhi kualitas ekstrak air yang dihasilkan.

Penyeduhan dingin *tisane* dan kopi saat ini mulai populer dan banyak dipilih oleh industri minuman (Magamma *et al.*, 2019). Dari segi efek farmakologi, beberapa penelitian

menunjukkan bahwa penyeduhan dingin pada beberapa jenis *tisane* dapat meningkatkan aktifitas antioksidan dibandingkan dengan ekstrak air panasnya karena metode tersebut dapat melindungi senyawa aktif dari degradasi akibat suhu yang tinggi (Chiang *et al.*, 2020; Damiani *et al.*, 2019; Lantano *et al.*, 2015; Magamma *et al.*, 2019).

Pengaruh berbagai proses pembuatan *tisane* wedang uwuh terhadap kandungan senyawa polifenol dan potensi aktifitas farmakologinya saat ini belum banyak diketahui. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa proses pembuatan *tisane* wedang uwuh terhadap kandungan senyawa polifenolnya dan aktifitas penangkap radikal bebasnya.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan adalah timbangan analitik, pemanas air, kertas saring, seperangkat alat gelas laboratorium, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang dibutuhkan adalah produk wedang uwuh dengan kemasan sangat sederhana (produk UMKM produksi Jogja) yang terdiri dari simplisia daun pala, daun cengkeh, daun kayu manis, kayu secang, batang serai, buah kapulaga, kulit batang kayu manis, buah cabe jawa, dan ranting-ranting dari batang cengkeh (3,5 g/penyajian), aq dest sebagai pelarut, asam galat, kuersetin, reagen Folin-Ciocalteu (1:10), AlCl₃ 10%, Na₂CO₃ 7,5%, natrium asetat

1M, etanol p.a, vitamin C, dan pereaksi 1,1-difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) 100 ppm.

Jalannya Penelitian

1. Preparasi pembuatan *tisane* wedang uwuh dan pengamatan organoleptisnya

Tisane Wedang uwuh dibuat dengan 4 metode yang berbeda, yaitu metode panas, yaitu dengan merebus simplisia penyusun wedang uwuh dengan aq dest (*Tisane* A); menyeduh dengan aq dest 100°C (*Tisane* B); dan dengan metode dingin, yaitu menyeduh dengan aq dest suhu kamar dan suhu dingin $\pm 2-4^{\circ}\text{C}$ (*Tisane* C dan D). Masing-masing proses preparasi dilakukan selama 15 menit untuk kemudian disaring. Hasil ekstrak airnya masing-masing (*tisane* A,B,C,dan D) diamati warna, bau dan rasanya dengan panca indera. Untuk uji organoleptis rasa dilakukan dengan mengambil masing-masing 1 mL *tisane* untuk dikecap rasanya dengan lidah.

2. Penetapan kadar senyawa polifenol total

Penetapan kadar senyawa polifenol total ada 2 jenis, yaitu senyawa fenolik total dan flavonoid total. Metode yang digunakan untuk kedua jenis uji merujuk pada metode yang dilakukan oleh Rezaeizadeh *et al* (2011) dengan modifikasi.

Untuk penetapan kadar fenolik total dibuat beberapa seri konsentrasi asam galat (ppm) sebagai pembanding dan 1 konsentrasi

masing-masing *tisane*. Larutan senyawa uji ditambahkan dengan 1,5 mL pereaksi follin-ciocalteau dan dibiarkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 1,2 mL Na_2CO_3 7,5%, adkan 10 mL dengan aq dest dan dihomogenkan. Setelah diinkubasi selama 80 menit terlindung dari cahaya, larutan uji selanjutnya dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 726 nm.

Untuk penetapan kadar flavonoid total dibuat beberapa seri konsentrasi kuersetin sebagai pembanding (ppm) dan 1 konsentrasi masing-masing *tisane*. Larutan senyawa uji ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10% dan 0,3 mL Na asetat 1M dan dihomogenkan. Larutan uji yang sudah diinkubasi selama 30 menit terlindung dari cahaya kemudian dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 346 nm. Blangko yang digunakan untuk kadar senyawa polifenol total adalah campuran masing-masing reagen tanpa sampel.

Data absorbansi masing-masing senyawa pembanding kemudian dicari persamaan regresi liniernya ($Y = bx+a$) dengan X adalah konsentrasi sedangkan Ynya adalah absorbansi. Kandungan senyawa total fenolik dan fenolik masing-masing *tisane* didapatkan dengan memasukkan data absorbansinya dengan persamaan regresi linier yang didapatkan. Untuk kandungan total senyawa fenolik total *tisane*

dinyatakan dalam setara asam galat ppm GAE (*Gallic acid Equivalent*) sedangkan untuk kandungan total senyawa flavonoid *tisane* dinyatakan setara dengan kuersetin ppm QE (*Quercetin Equivalent*).

3. Uji aktifitas penangkapan radikal bebas metode DPPH

Uji aktifitas penangkapan radikal bebas dilakukan dengan cara mencampur beberapa seri konsentrasi *tisane* A,B,C,dan D dengan 4 mL DPPH 100 ppm,adkan dengan etanol p.a 10 mL kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah diinkubasi, masing-masing *tisane* uji dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 518 nm sebagai Absorbansi sampel/AS. Dilakukan juga pengukuran absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang yang sama sebagai AO. Blangko yang digunakan adalah campuran pelarut tanpa sampel.

Data absorbansi dari sampel kemudian diolah dengan rumus untuk mengetahui % kadar hambatnya (% aktifitas penangkapan radikal bebasnya terhadap DPPH) (Rezaeizadeh *et al.*, 2011).

Kadar hambat (%) = [(AO – AS/AO) x 100%]

Data % kadar hambat (Y) kemudian diplotkan dengan seri konsentrasi (X) dan dicari persamaan regresi linearnya ($Y = bX + a$).

Selanjutnya dari persamaan regresi dapat dicari IC50nya dari masing-masing jenis *tisane*. IC50 adalah konsentrasi *tisane* yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH.

Hasil dan Pembahasan

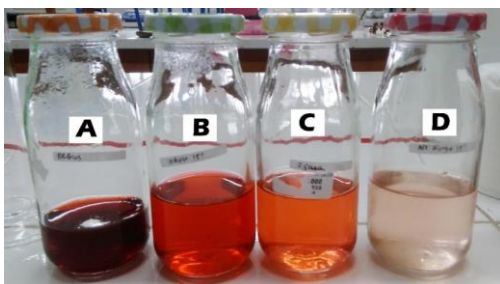
Hasil Organoleptis *Tisane* Uji

Berdasarkan pada hasil organoleptis dari *tisane* yang telah dibuat, terlihat bahwa terdapat pengaruh proses preparasi terhadap hasil *tisane* yang dihasilkan. Preparasi *tisane* dengan metode panas (*tisane* A dan B) menghasilkan warna yang lebih pekat dibandingkan dengan *tisane* yang dibuat dengan preparasi dingin (*Tisane* C dan D). Semakin pekat *tisane* juga menghasilkan bau khas aromatis lebih kuat dan rasa yang semakin kelat. Rasa kelat dalam percobaan ini didefinisikan sebagai rasa sepat, dan rasa kesat yang tertinggal setelah sampel *tisane* wedang uwuh sudah ditelan.

Apabila diurutkan dari tingkat organoleptis *tisane* dari yang warnanya paling pekat ke *tisane* yang kurang pekat, maka didapatkan hasil bahwa *tisane* A > B > C > D. Senyawa aktif yang dominan terlihat terekstrasi adalah zat warna merah dari kayu secang yang merupakan salah satu komponen dalam wedang uwuh yang diketahui sebagai brazilin dan turunannya yang bersifat polar, sehingga larut dalam air (Sari dan Suhartati, 2016).

Suhu merupakan salah satu faktor yang diketahui memiliki pengaruh besar dalam proses ekstraksi senyawa brazilin dan turunannya yang terdapat

dalam simplisia kayu secang (Palimbong *et al.*, 2020; Sari dan Suhartati, 2016). Dalam percobaan ini dapat dilihat bahwa bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu proses yang dilakukan dalam preparasi *tisane* wedang uwuh, maka akan menyebabkan semakin meningkatkan efektifitas ekstraksi senyawa brazilin dan turunannya yang dapat dilihat dari penampakan organoleptisnya (**Gambar 1**). Warna *tisane* yang dibuat dengan preparasi panas terlihat lebih pekat atau lebih tua dibandingkan dengan warna *tisane* yang dibuat dengan preparasi dingin.



Gambar 1. Hasil *tisane* uji

Perbedaan rasa kelat dan aroma pada masing-masing *tisane* kemungkinan dipengaruhi oleh suhu. Adanya proses pemanasan memaksimalkan proses ekstraksi metabolit sekunder yang berkarakteristik kelat yang terkandung dalam simplisia penyusun wedang uwuh. Proses pemanasan kemungkinan besar

juga menyebabkan kandungan minyak atsiri yang terdapat dalam komponen penyusun *tisane* wedang uwuh seperti pada daun pala, daun cengkeh, daun kayu manis, serai, kapulaga, kayu manis menguap sehingga bau aromatis pada *tisane* dengan preparasi panas lebih tajam daripada *tisane* yang dibuat dengan preparasi dingin.

Kadar Polifenol Total

Pengujian kadar kandungan senyawa polifenol total keempat jenis *tisane* pada penelitian ini dilakukan dengan 2 metode. Metode Follin-ciocalteu untuk mengetahui kadar senyawa fenolik totalnya dan metode kolorimetri dengan $AlCl_3$ untuk mengetahui kadar senyawa flavonoid totalnya. Senyawa pembanding yang digunakan untuk uji total senyawa fenolik adalah asam galat. Sedangkan senyawa pembanding yang digunakan untuk uji total senyawa flavonoid adalah kuersetin. Data kandungan senyawa total fenolik dan flavonoid pada keempat *tisane* dapat dilihat pada **Tabel 1 dan 2**, dimana untuk kandungan fenolik total besarnya dinyatakan dalam satuan ppm atau $\mu g/mL$ yang setara dengan masing-masing senyawa standar yang digunakan.

Tabel 1. Data kandungan senyawa flavonoid total

Persamaan regresi linier kuersetin: $y = 0,7387x + 0,2837$; $R^2 = 0,992$				
Jenis <i>tisane</i>	Data absorbansi			Kadar flavonoid total (ppm QE)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Rata-rata absorbansi	
A	0,525	0,530	0,528±0,00	0,07±0,00
B	0,720	0,722	0,721±0,00	0,12±0,00
C	0,324	0,333	0,328±0,00	0,03±0,00
D	0,118	0,120	0,119±0,00	-

Ket: Data kadar total flavonoid ppm merupakan data pengolahan lebih lanjut dari data absorbansi rata rata yang dimasukkan dalam persamaan regresi linier, ppm GAE artinya dalam tiap mL *tisane*, terkandung µg senyawa total flavonoid yang setara dengan kuersetin.

Tabel 2. Data kandungan senyawa fenolik total

Persamaan regresi linier asam galat: $y = 0,374x + 0,265$; $R^2 = 0,9243$				
Jenis <i>tisane</i>	Data absorbansi			Kadar total fenolik (ppm GAE)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Rata-rata absorbansi	
A	0,6125	0,595	0,605±0,01	0,009±0,01
B	0,356	0,373	0,365±0,01	0,003±0,01
C	0,3475	0,3435	0,346±0,00	0,002±0,00
D	0,2755	0,192	0,234±0,05	-

Ket: data kadar total fenolik ppm merupakan data pengolahan lebih lanjut dari data absorbansi rata rata yang dimasukkan dalam persamaan regresi linier, ppm GAE artinya dalam tiap ml *tisane*, terkandung µg senyawa total fenolik yang setara dengan asam galat.

Pada persamaan regresi linier yang didapatkan, R^2 untuk masing-masing total senyawa mendekati 1. Nilai R^2 ini menunjukkan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi larutan uji sesuai dengan hukum lambert-beer (Hardesty, 2010). Pada penelitian ini terdapat korelasi yang positif untuk kandungan senyawa polifenol dalam masing-masing jenis *tisane* uji dengan konsentrasinya. Hal tersebut berarti bahwa semakin tinggi kandungan senyawa polifenol yang terkandung dalam *tisane* maka semakin tinggi pula nilai absorbansinya.

Selain korelasi positif, data pada **Tabel 1 dan 2** juga menunjukkan bahwa proses preparasi masing-masing *tisane* yang berbeda-beda berpengaruh pada kandungan total senyawa polifenolnya.

Apabila diurutkan dari yang terbesar sampai terkecil, maka dapat dilihat bahwa kandungan total senyawa total fenolik *tisane* A > *tisane* B > *tisane* C > *tisane* D. Sedangkan kandungan total senyawa total flavonoid *tisane* B > *tisane* A > *tisane* C > *tisane* D. Kandungan senyawa polifenol pada *tisane* yang dibuat dengan melibatkan proses pemanasan (*tisane* A dan B) cenderung lebih tinggi dibandingkan pada jenis *tisane* yang dibuat tanpa pemanasan (*tisane* C dan D). Sehingga berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa suhu memiliki pengaruh terhadap proses ekstraksi senyawa polifenol yang terkandung dalam simplisia penyusun *tisane* wedang uwuh. Adanya proses pemanasan dapat meningkatkan proses ekstraksi senyawa polifenol total dari

simplisia-simplisia penyusun wedang uwuh.

Secara teoritis adanya pemanasan dapat menyebabkan struktur tumbuhan, dalam hal ini simplisia menjadi lebih lunak sehingga menyebabkan penurunan kekuatan dari membran sel yang memudahkan pelarut untuk menarik senyawa-senyawa dalam sel (Shi *et al.*, 2002). Hal ini juga sejalan dengan hasil organoleptis masing-masing *tisane*. *Tisane* A dan B yang dibuat dengan preparasi panas terlihat lebih pekat warnanya, lebih kelat dan berbau lebih aromatis dibandingkan dengan *tisane* C dan D yang menunjukkan bahwa proses ekstraksi senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam simplisia penyusun *tisane* wedang uwuh kemungkinan lebih optimal jika melibatkan proses pemanasan.

Hasil data yang diperoleh untuk kandungan polifenol pada *tisane* dengan preparasi dingin pada percobaan ini ternyata bertolak belakang dengan percobaan serupa terhadap *tisane* dari beberapa varian olahan daun *Camelia sinensis* oleh Chiang *et al.*, (2020) ; Lantano *et al.*, (2015); dan Magammana *et al.*, (2019) dan *tisane* dari herba *Aspalathus linearis* (Damiani *et al.*, 2019). Pada percobaan sebelumnya metode preparasi dingin justru dapat meningkatkan kandungan senyawa polifenol dalam *tisane* karena preparasi dingin tetap dapat menyari senyawa polifenol secara efektif dari simplisia uji dan dapat melindungi kandungan senyawa polifenolnya dari kerusakan akibat suhu yang tinggi.

Pada percobaan ini preparasi *tisane* yang tanpa melibatkan pemanasan justru menyebabkan proses ekstraksi metabolit sekunder pada simplisia penyusun wedang uwuh menjadi kurang efektif. Hal ini dapat dilihat pada **Tabel 1 dan 2**. *Tisane* C dan D memiliki kandungan senyawa fenolik total yang lebih rendah dibandingkan dengan *tisane* A dan B. Bahkan senyawa polifenol total dalam *tisane* D tidak dapat diukur dengan metode yang digunakan pada percobaan ini karena kandungannya yang sangat rendah, sehingga sulit untuk terdeteksi.

Adanya perbedaan hasil antara percobaan sebelumnya dengan percobaan ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh perbedaan simplisia yang digunakan. Simplisia pada percobaan-percobaan sebelumnya tergolong simplisia dengan tipe jaringan yang lunak (daun dan herba lunak) dengan bentuk yang sudah tidak utuh. Sehingga meskipun tanpa adanya bantuan suhu, pelarut berupa air tetap masih dapat masuk ke jaringan dan sel dan dapat mengekstraksi kandungan senyawa polifenolnya dengan efektif. Sementara itu simplisia penyusun wedang uwuh sebagian besar merupakan simplisia dengan jaringan yang cukup keras seperti daun dan bunga kering yang teksturnya kaku, kulit kayu, biji dan juga ranting-ranting yang tebal dan keras. Sebagian besar simplisia wedang uwuh yang digunakan dalam percobaan ini juga masih dalam keadaan utuh.

Air pada suhu kamar (15-30° C) pada percobaan ini diketahui masih dapat mengekstraksi senyawa polifenol yang lebih baik dibandingkan dengan air pada suhu dingin (4°C). Hal ini kemungkinan disebabkan karena air dengan suhu ruang masih dapat melunakkan jaringan sebagian kecil simplisia penyusun wedang uwuh, sementara air dengan suhu yang lebih rendah ternyata sudah tidak dapat melunakkan jaringan simplisia yang sebagian besar bertekstur tebal, kaku dan keras sehingga sulit untuk melakukan penetrasi ke dalam sel untuk mengekstraksi kandungan senyawa metabolit sekunder, termasuk senyawa polifenolnya.

Aktifitas Penangkapan Radikal Bebas Tisane dan Korelasi dengan Proses Preparasinya

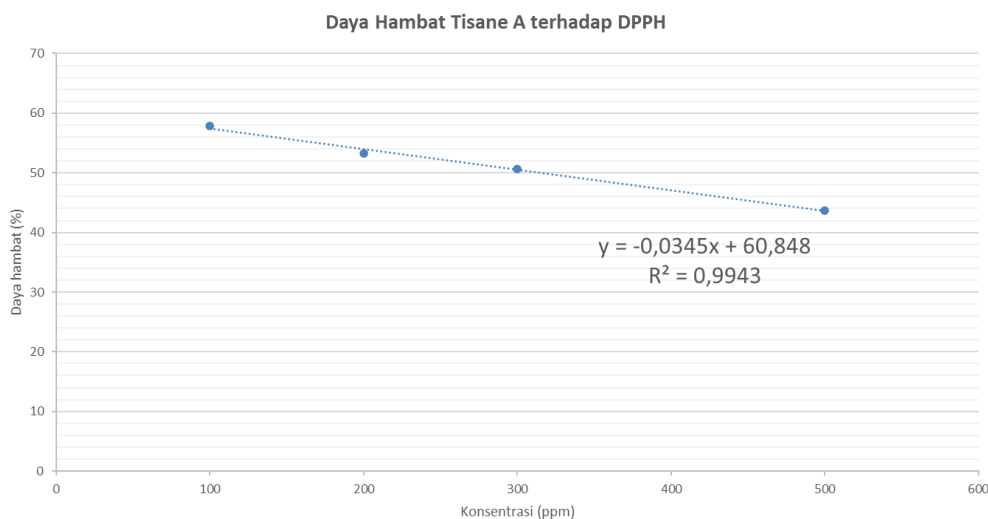
Aktifitas penangkapan radikal bebas *tisane* wedang uwuh yang diuji pada penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. DPPH dalam

penelitian ini berperan sebagai senyawa yang mengandung radikal bebas, yaitu elektron yang tidak berpasangan dan bersifat reaktif. Suatu senyawa dapat diketahui dan diukur aktifitas penangkapan radikal bebasnya apabila senyawa tersebut dapat menstabilkan radikal bebas DPPH yang elektron bebas atau elektron tidak berpasangan yang reaktif (Kedare dan Singh, 2011).

Adanya reaksi penangkapan radikal bebas antara DPPH dengan senyawa uji dapat dilihat dengan adanya reduksi warna larutan DPPH yang berwarna biru keunguan menjadi berwarna kuning sampai tidak berwarna. Adanya peristiwa reduksi warna inilah yang absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktifitas penangkapan radikal bebas keempat *tisane* uji dapat dilihat pada pada **Tabel 3**. Berdasarkan pada hasil pengujian, dapat dilihat bahwa IC50 *tisane* wedang uwuh yang dibuat dengan preparasi panas lebih besar daripada IC50 *tisane* wedang uwuh C dan D yang dibuat dengan preparasi dingin.

Tabel 3. Hasil uji penangkapan radikal bebas metode DPPH *tisane* wedang uwuh uji

Jenis <i>tisane</i>	Regresi linier konsentrasi vs daya hambat	IC ₅₀ (ppm)
A	$y = -0,0345x + 60,848; R^2 = 0,9943$	314,43
B	$y = -0,002x + 56,429; R^2 = 0,9381$	3214,50
C	$y = -0,0033x + 73,325; R^2 = 0,9182$	7068,18
D	$y = -0,0007x + 72,358; R^2 = 0,974$	31940,00



Gambar 2. Grafik regresi linier daya hambat *tisane* A terhadap DPPH

Sehingga dapat disimpulkan bahwa faktor suhu mempengaruhi aktifitas penangkapan radikal bebas pada wedang uwuh yang berkolerasi positif dengan kandungan senyawa polifenolnya. Namun demikian ternyata muncul pola yang khas dari hasil uji DPPH keempat jenis *tisane*. Berdasarkan pada hasil regresi linier antara konsentrasi dengan kemampuan daya hambatnya, dapat dilihat bahwa terdapat korelasi yang negatif yang dapat dilihat dari nilai negatif dari b dalam persamaan. Yang artinya semakin pekat konsentrasi *tisane* wedang uwuh justru menunjukkan semakin rendah aktifitas penangkapan radikal bebasnya. Korelasi negatif tersebut dapat dilihat pada **Gambar 2** yang merupakan salah satu grafik regresi linier daya hambat *tisane* A terhadap DPPH.

Senyawa metabolit sekunder yang telah banyak diketahui bertanggung jawab terhadap aktifitas penangkapan radikal bebas adalah

senyawa polifenol yang terkandung dalam suatu simplisia tumbuhan. Hal ini disebabkan karena senyawa polifenol umumnya memiliki banyak gugus hidroksi yang merupakan penyumbang elektron yang dapat menstabilkan electron reaktif pada suatu oksidan. Dalam percobaan ini, yang berperan sebagai oksidan adalah senyawa DPPH. Komponen penyusun wedang uwuh secara terpisah-pisah telah diketahui kaya akan kandungan senyawa polifenolnya, termasuk senyawa fenolik yang terikat pada struktur senyawa flavonoidnya (Sinsawasdi,2012; Adel & Prakash, 2010; Akinboro *et al.*,2011; Wu *et al.*,2013; Deepa *et al.*,2013; Munisa *et al.*,2012; Kim *et al.*,2011; Asimi *et al.*,2013; Saleh & Kamel.,2011).

Adanya korelasi negatif aktifitas penangkapan radikal bebas wedang uwuh terhadap konsentrasinya kemungkinan disebabkan karena faktor kompleksitas kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung

dalam *tisane* wedang uwuh uji. Seperti yang telah diketahui, *tisane* dibuat dengan menggunakan pelarut air yang polar dan tidak selektif. Pelarut ini dapat mengekstraksi berbagai macam senyawa metabolit sekunder atau bahkan senyawa metabolit primer yang terkandung dalam setiap simplisia penyusun *tisane*.

Adanya proses pemanasan kemungkinan juga semakin menyebabkan kandungan senyawa kimia yang dalam berbagai simplisia penyusun wedang uwuh semakin banyak yang terekstraksi. Sehingga kandungan senyawa dalam *tisane* uji kemungkinan besar tidak hanya senyawa polifenolnya saja tetapi berbagai senyawa lain. Hal tersebut didukung juga dengan hasil uji organoleptis yang telah dilakukan. Warna, bau dan rasa kelat dapat menjadi indikasi bahwa terdapat senyawa-senyawa selain senyawa polifenol yang kemungkinan ikut terekstraksi.

Kandungan berbagai macam senyawa dalam suatu tumbuhan, seperti dalam buah dan sayur sangat kompleks dan secara alami memungkinkan untuk terjadinya interaksi (Phan *et al.*, 2018). Pada penelitian yang dilakukan oleh Couzinet-Moission *et al* (2010) diketahui terdapat interaksi antara senyawa kafein dengan senyawa polifenol (Epigallo catechin gallat dan Epigallocatechin) dalam satu *tisane* teh hitam dari daun *Camelia sinensis*. Beberapa penelitian lain terkait interaksi antar senyawa polifenol dalam *tisane* teh hijau (*C. sinensis*) atau senyawa polifenol dalam teh hijau dengan metabolit sekunder lain

yang terkandung dalam makanan berbasis tumbuhan telah terbukti sangat memungkinkan terjadi (Colon & Nerin, (2016) ; Yin J., *et al* (2012) ; Wang S., *et al* 2011). Adanya interaksi antar metabolit sekunder tersebut dapat mempengaruhi sifat kimia senyawa polifenol sehingga dapat mempengaruhi aktifitas antioksidannya baik secara sinergis, aditif ataupun secara antagonis (Wang S.,*et al* 2011).

Adanya kompleksitas kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam *tisane* wedang uwuh yang berasal dari campuran berbagai macam simplisia kemungkinan saling berinteraksi sehingga mengakibatkan efek antagonis pada aktifitas penangkapan radikal bebasnya oleh senyawa polifenol. Hal inilah yang kemungkinan besar dapat menjelaskan adanya fenomena korelasi negatif antara tingginya konsentrasi *tisane* wedang uwuh uji dengan aktifitas penangkapan radikal bebasnya yang diuji dengan metode DPPH. Namun demikian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang berinteraksi dengan senyawa polifenol dalam *tisane* wedang uwuh dan perlu dilakukan uji aktifitas penangkapan radikal bebas dengan metode lain sebagai konfirmasi pembandingan

Kesimpulan

Berdasarkan pada data penelitian yang didapatkan maka dapat diambil kesimpulan bahwa perbedaan proses preparasi *tisane* wedang uwuh (panas dan dingin) berpengaruh

terhadap visual, organoleptis, kandungan total senyawa polifenolnya dan aktifitas penangkapan radikal bebasnya. Namun ternyata tidak ada korelasi positif antara kepekatan *tisane* dan tingginya kandungan senyawa polifenol yang terkandung dalam *tisane* terhadap aktifitas penangkapan radikal bebasnya yang diuji dengan metode DPPH. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena kompleksitas kandungan senyawa metabolit sekunder dalam *tisane* wedang uwuh yang memungkinkan untuk terjadi interaksi yang dapat menurunkan aktifitas penangkapan radikal bebasnya.

Daftar Pustaka

- Asimi OH, Sahu NP, Pal AK. 2013. Antioxidant capacity of crude water and ethyl acetate extracts of some Indian spices and their antimicrobial activity against *Vibrio vulnificus* and *Micrococcus luteus*, *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(26): 1907-1915.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
- Chiang SH, Tsou MF, Chang CY, Chen CW. 2020. Physicochemical characteristics, sensory quality, and antioxidant properties of Paochung tea infusion brewed in cold water. *International Journal of Food Properties*. 23: 1611–1623. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1820519>.
- Colon M, Nerín C. 2016. Synergistic, antagonistic and additive interactions of green tea polyphenols. *European Food Research and Technology*. 242: 211–220.
- Couzinet-Mossion A, Balayssac S, Gilard V, Malet-Martino M, Potin-Gautier M, Behra P. 2010. Interaction mechanisms between caffeine and polyphenols in infusions of *Camellia sinensis* leaves. *Food Chemistry*. 119(1): 173-181.
- Damiani E, Carloni P, Rocchetti G, Senizza B, Tiano L, Joubert E, de Beer D, Lucini L. 2019. Impact of cold versus hot brewing on the phenolic profile and antioxidant capacity of rooibos (*Aspalathus linearis*) herbal tea. *Antioxidants*. 8. <https://doi.org/10.3390/antiox8100499>.
- Deepa G, Ayesha S, Nishtha K, Thankamani M. 2013. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phytochemical compounds of Indian culinary spices. *International Food Research Journal*. 20(4): 1711-1716.
- Hardest J. 2010. Spectrophotometry and the Beer-Lambert Law 6. <http://vfsilesieux.free.fr/1Seuro/BeerLaw.pdf> diunduh pada 11/1/2021.
- Jager S, Beffert M, Hoppe K, Nadberezny D, Frank B, Scheffler A. 2010. Preparation of herbal tea as infusion or by maceration at room temperature using mistletoe tea as

- an example.
<http://dx.doi.org/10.3797/scipharm.1006-06>.
- Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 48, 412–422.
<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>.
- Kim IS, Yang MR, Lee OH, Kang SK. 2011. Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Sciences*. 12: 4120-4131.
- Lantano C, Rinaldi M, Cavazza A, Barbanti D, Corradini C. 2015. Effects of alternative steeping methods on composition, antioxidant property and colour of green, black and oolong tea infusions. *Journal of Food Science and Technology*. 52: 8276–8283.
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1971-4>.
- Magamma C, Rock C, Wang L, Gray V. 2019. A comparison of the polyphenolic and free radical scavenging activity of cold brew versus hot brew black tea (*Camellia sinensis*, Theaceae). *Journal of Food Research*. 8: 35.
<https://doi.org/10.5539/jfr.v8n3p35>
- Munisa A, Wresdiyati T, Kusumorini N, Manalu W. 2012. Antioksidant activity of clove leaf extract. *Jurnal Veteriner*. 13(3): 272-277.
- Nacz M, Shahidi F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054: 95–111.
- <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>.
- Palimbong S, Mangalik G, Mikasari AL. 2020. Pengaruh lama perebusan terhadap daya hambat radikal bebas, viskositas dan sensori sirup secang (*Caesalpinia sappan* L.). *eknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 11: 7–15.
<https://doi.org/10.35891/tp.v11i1.1786>
- Phan MAT, Paterson J, Bucknall M, Arcot J. 2018. Interactions between phytochemicals from fruits and vegetables: Effects on bioactivities and bioavailability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 58: 1310–1329.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1254595>.
- Ravikumar C. 2014. Review on herbal teas, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(5): 236-238.
- Rezaeizadeh A, Zuki ABZ, Abdollahi M, Goh YM, Noordin MM, Hamid M, Azmi TI. 2011. Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extract of *Momordica charantia*, *African Journal of Biotechnology*. 10(24): 4932-4940.
- Prakash RSAPJ. 2010. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *Journal of Medicinal Plants Research*. 4. 2674–2679.
<https://doi.org/10.5897/JMPR09.464>.

- Saleh FA, Kamel SA. 2011. Antioxidant and antibacterial activities of clove and cardamom extracts. Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt. 201(39): 35-57.
- Sari R, Suhartati S. 2016. Secang (*Caesalpinia sappan* L.): Tumbuhan herbal kaya antioksidan. Buletin Eboni. 13: 57-67. <https://doi.org/10.20886/buleboni.5077>.
- Shi J, Yu J, Pohorly J, Young J, Bryan M, Wu Y. 2002. Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. Journal of Food, Agriculture & Environment (JFAE). 1(2): 42-47.
- Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y. 2007. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chemistry. 101: 1012-1018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.055>.
- Sinsawasdi VK. 2012. Sappan wood water extract: evaluation of color properties, functional properties, and toxicity. Dissertation. University of Florida.
- Yin J, Becker E, Andersen M, Skibsted L. 2012. Green tea extract as food antioxidant - Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. Food Chemistry. 135:2195-2202.
- Wang S, Meckling K, Marccone M, Kakuda Y, Tsao R. 2011. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59: 960-968.