

Optimasi Formula Wedang Uwuh Berbasis Rosella Merah sebagai Minuman Fungsional

Optimization of Red Rosella-based Wedang Uwuh Formula as a Functional Drink

Tri Dewanti Widyaningsih^{*1}, Muhammad Fawzul Alif Nugroho², Arya Ulilalbab³

¹Laboratorium Nutrisi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²Program Studi S2 Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

³Program Studi S1 Gizi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Kediri, Indonesia

ARTICLE INFO

Received: 09-11-2021

Accepted: 24-09-2021

Published online: 18-03-2022

*Correspondent:

Tri Dewanti Widyaningsih
tridewantiw@ub.ac.id



10.20473/amnt.v6i1.2022.53-62

Available online at:

<https://e-journal.unair.ac.id/AMNT>

Keywords:

Minuman Tradisional, Optimasi Formula, Makanan Fungsional, Wedang Uwuh, Rosella

ABSTRACT

Latar Belakang: Kebiasaan mengkonsumsi herbal dan rempah-rempah tinggi antioksidan dalam sediaan jamu tradisional telah dilakukan secara luas, tetapi tidak semua masyarakat menyukai jamu tradisional. Salah satu alternatif untuk meningkatkan konsumsi minuman fungsional tinggi antioksidan yaitu dengan melakukan formulasi aneka herbal dengan komposisi rosella, secang, kayu manis dan cengkeh. Pemilihan bahan tersebut selain sebagai upaya diversifikasi, juga diharapkan dapat bersinergi meningkatkan karakteristik sensori.

Tujuan: Mendapatkan formula optimal wedang uwuh berbasis rosella merah sebagai minuman fungsional.

Metode: Optimasi formula wedang uwuh berbasis rosella menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan variabel bebas yaitu serbuk kelopak rosella merah, serbuk secang, serbuk kayu manis, dan serbuk cengkeh. Respon yang digunakan yaitu aktivitas antioksidan metode DPPH, total fenol dan total flavonoid. Formula optimal selanjutnya diuji dengan ketiga parameter tersebut menggunakan spektrofotometer.

Hasil: Formula optimal yang diperoleh berdasarkan analisis RSM yaitu serbuk kelopak rosella merah 1,891 gr, serbuk kayu secang 1,34, serbuk kayu manis 0,206 dan serbuk cengkeh 0,063 dengan nilai desirability 1. Aktivitas antioksidan formula tersebut setelah dilakukan verifikasi yaitu $37,007 \pm 0,0466$ mg TE/g, total fenol $40,9542 \pm 0,0634$ mg GAE/g dan total flavonoid $19,842 \pm 0,488$ mg QE/g.

Kesimpulan: Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara nilai prediksi dan verifikasi terhadap ketiga respon sehingga formulasi yang disarankan oleh optimasi *mixture design* pada *design expert* baik untuk diterapkan.

ABSTRACT

Background: The habit of consuming herbs and high-antioxidant spices in traditional herbal preparations has been widely practiced, but not all people like traditional herbal medicine. One alternative to increase the consumption of high-antioxidant functional drinks is to formulate various herbs with the composition of rosella, sappanwood, cinnamon, and cloves. Apart from being a diversification effort, the choice of this material is also expected to work together to improve sensory characteristics.

Objectives: Getting the optimal red rosella-based wedang uwuh formula as a functional drink.

Methods: Optimization of rosella-based wedang uwuh formula using *Response Surface Methodology* (RSM) method with independent variables, namely red rosella petal powder, sappanwood powder, cinnamon powder, and clove powder. The responses used were the antioxidant activity of the DPPH method, total phenols, and total flavonoids. The optimal formula was then tested with these three parameters using a spectrophotometer.

Results: The optimal formula obtained based on RSM analysis was red rosella petal powder 1.891 gr, sappan wood powder 1.34, cinnamon powder 0.206, and clove powder 0.063 with a desirability value of 1. The antioxidant activity of the formula after verification was 37.007 ± 0.0466 mg TE/g, total phenol 40.9542 ± 0.0634 mg GAE/g, and total flavonoids 19.842 ± 0.488 mg QE/g.

Conclusions: There is no significant difference between the predicted and verification values of the three responses so the formulation suggested by the mixture design optimization in the design expert is good to be applied.

Keywords: Traditional Drink, Optimization of Formula, Functional Food, Wedang Uwuh, Rosella



©2022. Widyaningsih, et al. Open access under CC BY – SA license.

Received: 09-11-2020, Accepted: 24-09-2021, Published online: 18-03-2022.

doi: 10.20473/amnt.v6i1.2022.53-62. Jointly Published by IAGIKMI & Universitas Airlangga

PENDAHULUAN

Sangat ironis, banyak masyarakat yang tidak menyadari akan dampak negatif rokok. Padahal bahaya-bahaya tersebut sudah tercantum dalam bungkus rokok bahwasanya merokok dapat menyebabkan kanker, serangan jantung, impotensi, gangguan kehamilan dan janin. Dampak tersebut berhubungan dengan adanya kandungan radikal bebas dalam asap rokok seperti NO, CO, NO_x, H₂O₂, aldehid, *trace elements* dan *nitroso compounds*¹. Radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif yang merupakan muara dari penyakit degeneratif. PP RI nomor 109 (2012) menyebutkan, produk tembakau terutama rokok yang dibakar terdapat lebih dari 4.000 zat kimia antara lain nikotin yang bersifat adiktif dan tar yang bersifat karsinogenik.

Solusi yang bisa dilakukan untuk mengatasi hal tersebut yaitu pembuatan formula seduhan wedang uwuh berbasis rosella merah yang terdiri dari kelopak rosella merah (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai bahan tinggi antiosianin², kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan Secang (*Caesalpinia sappan*). Pelarut air cocok untuk melarutkan beberapa senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan tersebut karena mempunyai kepolaran yang mendekati. Selain itu, pelarut air dipilih karena lebih aman dan mudah diaplikasikan. Ketersediaan keempat bahan tersebut sangat melimpah, harga murah, dan mempunyai kandungan bioaktif tinggi sehingga sangat aplikatif apabila diaplikasikan dalam pembuatan minuman fungsional. Minuman fungsional dapat meningkatkan sistem imun dan proses pencegahan berbagai penyakit akibat paparan berbagai sumber radikal bebas. Rosella merah sebagai basis dalam pembuatan wedang uwuh fungsional karena bahan tersebut dapat mencegah kenaikan LDL (*low-density lipoprotein*)³, mencegah penurunan HDL (*high-density lipoprotein*)⁴, mencegah kenaikan⁵ dan mengurangi nilai MDA (*malondialdehyde*)⁶, serta dapat memperbaiki histopatologi hepar pada tikus yang dipapar radikal bebas⁷.

Wedang uwuh merupakan seduhan minuman hangat khas Kecamatan Imogiri, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta yang mengandung aneka rempah dan biasanya disajikan pada pagi ataupun sore hari. Komposisi wedang uwuh terdiri dari jahe, daun manisjangan, daun pala, daun cengkeh, cengkeh, daun secang, dan gula batu⁸. Selain itu tidak jarang ditemukan kayu secang, kayu manis dan aneka herbal lain pada wedang uwuh. Adanya aneka rempah penyusun wedang uwuh bisa mengidentifikasi bahwa wedang uwuh termasuk minuman fungsional.

Pangan fungsional adalah pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasarkan kajian ilmiah mempunyai fungsi fisiologis tertentu, terbukti tidak berbahaya dan bermanfaat bagi kesehatan⁹. Fenomena tren pangan fungsional telah melahirkan paradigma baru bagi perkembangan ilmu dan teknologi pangan, yaitu telah dilakukannya berbagai modifikasi produk olahan pangan yang mengarah pada sifat fungsional. Saat ini, di Indonesia telah banyak dijumpai produk pangan fungsional baik di pasar tradisional ataupun pasar modern. Keanekaragaman sumber daya alam lokal di Indonesia sangat berpotensi

untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional dengan tujuan untuk memperbaiki fungsi-fungsi fisiologis, yaitu agar dapat meningkatkan imunitas dan mampu melindungi tubuh dari penyakit, khususnya penyakit degeneratif seperti hipertensi, diabetes, kolesterol dan kanker. Tujuan dari penelitian ini yaitu mendapatkan formula optimal wedang uwuh berbasis rosella merah sebagai minuman fungsional berdasarkan respon aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid.

METODE

Optimasi formula wedang uwuh berbasis rosella menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan desain percobaan *mixture experiment*. Desain percobaan ini melibatkan dua atau lebih komponen dengan komposisi tertentu untuk menghasilkan produk akhir dengan karakteristik tertentu. Variabel bebas yang digunakan yaitu serbuk kelopak rosella merah (1,85 - 2,82 gr), serbuk secang (0,54 - 1,34 gr), serbuk kayu manis (0,09 - 0,25 gr), dan serbuk cengkeh (0,05 - 0,06 gr), yang ditetapkan pada penelitian pendahuluan berdasarkan produk komersial sebagai pembanding. Respon yang digunakan yaitu aktivitas antioksidan metode DPPH, total fenol dan total flavonoid. Ketiga parameter tersebut merupakan senyawa bioaktif yang dapat melindungi sel tubuh akibat stres oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Formula optimal selanjutnya diuji dengan ketiga parameter tersebut menggunakan spektrofotometer.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kelopak rosella merah, bunga cengkeh dan serbuk kasar kayu secang yang diperoleh dari Desa Selopanggung Kecamatan Semen Kabupaten Kediri. Serbuk kayu manis diperoleh dari Kabupaten Madiun. Selanjutnya keempat bahan tersebut diuji aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid. Sebelum dilakukan pengujian ketiga parameter tersebut, sampel ditimbang sebanyak 3,5 gr lalu diseduh dengan menggunakan air suhu 80°C selama 5 menit. Dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan filtrat diletakkan ke dalam botol gelap apabila proses penyeduhan sudah selesai. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH yang dimodifikasi dari Thaipong, *et. al.*, (2006)¹⁰, total fenol yang dimodifikasi dari Sharma (2011)¹¹ dan total flavonoid yang dimodifikasi dari Li *et. al.*, (2007).

Analisa Aktivitas Antioksidan

Pembuatan kurva standar trolox dimulai dengan membuat larutan trolox pada berbagai pengenceran yaitu 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Sebanyak 0,5 ml larutan trolox dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 2,5 ml Dpph 40 µg/ml (dilarutkan dalam metanol). Setelah itu, tabung reaksi kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dalam ruang yang gelap. Setelah diinkubasi kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 517 nm. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi trolox diplotkan ke dalam grafik dan menghitung persamaan linier $y = ax + b$.

Analisa Total Fenol

Pembuatan kurva standar asam galat dimulai dengan membuat larutan asam galat pada berbagai pengenceran yaitu 0, 40, 80, 120, 160 dan 200 ppm. Sebanyak 0,5 ml larutan asam galat diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu sebanyak 2,5 ml reagen folin ciocalteau 10% dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Setelah itu sebanyak 2 ml Na₂CO₃ 7,5% dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian divortex agar homogen lalu campuran diinkubasi selama 30 menit. Setelah diinkubasi kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 756 nm. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi asam galat diplotkan ke dalam grafik dan menghitung persamaan linear $y = ax + b$.

Analisa Total Flavonoid

Pembuatan kurva standar trolox dimulai dengan membuat larutan quercetin pada berbagai pengenceran yaitu 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Sebanyak 1 ml larutan quercetin diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 ml

Aquadest dan reagen 0,3 ml NaNO₂ 5%. Tabung reaksi divortex kemudian diinkubasi selama 6 menit. Setelah itu ditambahkan 0,3 ml AlCl₃ 10% kemudian divortex dan diinkubasi selama 6 menit. Setelah itu ditambahkan 4 ml NaOH 1 M dan 2,4 ml aquadest lalu divortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Setelah diinkubasi kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 325 nm. Pembuatan kurva standar quercetin dimulai dengan membuat larutan trolox pada berbagai pengenceran yaitu 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa bahan baku

Analisa terhadap bahan baku terdiri dari aktivitas antioksidan DPPH, total fenol, dan total flavonoid. Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini yakni serbuk kayu secang, serbuk kayu manis, serbuk bunga cengkeh dan serbuk kelopak rosella. Hasil analisa dari keempat bahan baku tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa aktivitas antioksidan DPPH, total fenol, dan total flavonoid pada bahan baku

Bahan baku	Aktivitas Antioksidan DPPH (mg TE/g)	Total Fenol (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg QE/g)
Kayu Secang	21,16	56,12	22,31
Kayu Manis	21,21	19,05	12,04
Bunga Cengkeh	206,95	219,79	123,86
Kelopak Rosella Merah	3,98	11,56	5,78

Tabel 1. menunjukkan bahwa dari kelima bahan baku yang digunakan, cengkeh memiliki aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid yang paling tinggi, dengan masing-masing nilai 206,95 mg TE/g, 219,79 mg GAE/g dan 123,86 mg QE/g. Polifenol, flavonoid dan DPPH mempunyai korelasi positif yang kuat dalam proses peredaman dan penangkalan radikal¹². Bunga cengkeh mengandung senyawa bioaktif yang cukup tinggi, yakni fenol 118,40 mg GAE/g, flavonoid 161,67 mg QE/g¹³. Komponen senyawa yang paling banyak ada pada cengkeh adalah eugenol, kemudian eugenil asetat, β -caryophyllene, 2-heptanone, etil heksanoat, humulenol, α -humulene, calacorene dan calamenene¹⁴.

Kayu manis mempunyai aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid masing-masing 21,21 mg TE/g, 19,05 mg GAE/g dan 12,04 mg QE/g. Aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid adalah 1058,75 mg TE/100g, 481 mg GAE/100g dan 300mg RE/100g¹⁵. Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid dalam kayu manis ini diantaranya adalah epicatechin, catechin, dan procyanidin B2. Senyawa-senyawa ini mempunyai kemampuan untuk mengikat senyawa karbonil reaktif seperti methylglyoxal (MGO) dan mempunyai kemampuan sebagai antioksidan¹⁶.

Kayu secang mempunyai aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid masing-masing 21,16 mg TE/g, 56,12 mg GAE/g dan 22,31 mg QE/g. Kayu secang mengandung fenol 30,95 mg GAE/g¹⁷. Golongan senyawa yang terkandung dalam kayu secang yakni senyawa homoisoflavonoid, pewarna merah saponin, tanin, asam

galat dan brazilin¹⁸. Senyawa bioaktif lain yang terdapat pada kayu secang seperti fenol, flavonoid, tanin, 4-omethylsappanol, protosappanin A, protosappanin B, protosappanin E^{19,20}. Secang dalam keadaan tunggal memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibanding yang lainnya²¹.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yakni kelopak rosella merah menunjukkan aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid masing-masing 3,98 mg TE/g, 11,56 mg GAE/g dan 5,78 mg QE/g. Kelopak rosella merah mengandung fenol 7,63 mg GAE/g, antioksidan 33,98 mg TE/100g²². Rosella merupakan sumber vitamin, mineral maupun senyawa bioaktif seperti asam organik, fitosterol dan polifenol yang mempunyai aktivitas antioksidan. Senyawa fenol terbanyak pada rosella didominasi oleh antosianin seperti delphinidin-3-glucoside, sambubioside, dan cyanidin-3-sambubioside; senyawa flavonoid lainnya yakni gossypetin, hibiscetin, dan golongan glikosida yakni asam protocatechuic, eugenol, dan sterol seperti β -sitoosterol dan ergosterol²³. Ekstrak rosella merah merupakan sumber antioksidan yang baik yang berasal dari adanya antosianin². Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rosella merah dapat menghambat infeksi bakteri seperti *S. Aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*²⁴.

Formulasi Wedang Uwuh Berbasis Rosela Merah dengan Mixture Design

Mixture design merupakan perangkat efisien yang memberikan kombinasi formulasi bahan terbaik²⁵. Optimalisasi formula wedang uwuh berbasis rosela

merah menggunakan desain eksperimen *mixture design* untuk mendapatkan respon aktivitas antioksidan DPPH terbaik, total fenol terbaik dan total flavonoid terbaik. Nilai variabel bebas dan respon dari desain ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai variabel bebas dan respon *Mixture Design*

Run	Secang (g)	Kayu Manis (g)	Cengkeh (g)	Rosela Merah (g)	Aktivitas Antioksidan DPPH (mg TE/g)	Total Fenol (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg QE/g)
1	0,50	0,05	0,05	2,90	25,38	28,57	15,88
2	0,72	0,05	0,04	2,69	27,52	31,30	16,07
3	0,66	0,26	0,06	2,52	31,88	34,89	17,12
4	0,84	0,26	0,06	2,34	31,91	35,00	17,44
5	1,18	0,05	0,07	2,20	29,02	34,76	17,79
6	1,34	0,26	0,04	1,86	32,76	39,43	20,21
7	1,02	0,26	0,04	2,18	29,04	35,17	17,82
8	1,34	0,05	0,04	2,07	32,90	36,94	18,09
9	0,50	0,26	0,04	2,70	26,90	34,80	17,44
10	1,32	0,26	0,07	1,85	36,40	40,39	20,53
11	0,50	0,19	0,07	2,74	24,17	34,58	16,88
12	0,85	0,14	0,04	2,47	26,06	34,38	16,74
13	1,34	0,05	0,04	2,07	33,88	39,56	18,03
14	0,50	0,05	0,05	2,90	25,45	28,55	15,88
15	0,50	0,26	0,04	2,70	26,94	34,82	17,31
16	0,50	0,19	0,07	2,74	27,08	34,71	16,96
17	1,34	0,13	0,06	1,98	35,98	40,33	19,86
18	1,03	0,05	0,07	2,35	27,78	34,40	16,82
19	1,34	0,13	0,06	1,98	36,68	40,39	20,26
20	1,16	0,26	0,07	2,01	36,26	40,04	19,22

Pada Tabel 2 menunjukkan nilai total aktivitas antioksidan pada rentang 24,17 hingga 36,68 mg TE/g, nilai total fenol berada pada rentang 28,55 hingga 40,39 mg GAE/g, dan nilai total flavonoid berada pada rentang 15,88 hingga 20,53 mg QE/g. Data tersebut juga menunjukkan adanya sinergisme bahan yang digunakan terhadap total aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid jika dibandingkan dengan data kandungan bahan baku ketika berada dalam formulasi yang sama dibandingkan ketika terpisah (Tabel 1).

Permodelan dan Analisa Respon Aktivitas Antioksidan DPPH

Hasil analisa program terhadap aktivitas antioksidan DPPH menunjukkan bahwa model ordo yang disarankan untuk digunakan adalah model quadratic. ANOVA untuk respon aktivitas antioksidan DPPH dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. ANOVA pada model quadratic total aktivitas antioksidan DPPH

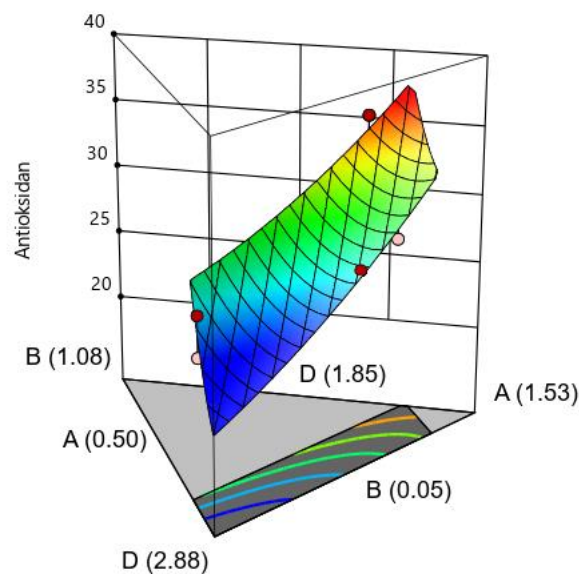
Source	Sum of squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	317.81	9	35.31	28.46	< 0.0001	Significant
(¹)Linear						
Mixture	255.96	3	85.32	68.76	< 0.0001	
AB	2.65	1	2.65	2.14	0.1744	
AC	23.56	1	23.56	18.98	0.0014	
AD	3.16	1	3.16	2.54	0.1418	
BC	26.99	1	26.99	21.75	0.0009	
BD	1.56	1	1.56	1.26	0.2879	
CD	22.93	1	22.93	18.48	0.0016	
Residual	12.41	10	1.24			
Lack of Fit	7.44	5	1.49	1.5	0.3347	not significant
Pure Error	4.97	5	0.9945			
Cor Total	330.22	19				
R ²	0.9624					
Adjusted R ²	0.9286					
Predicted R ²	0.8275					

Tabel 3. menunjukkan bahwa model quadratic memiliki nilai R^2 yang mendekati 1 yaitu sebesar 0,9624 yang mengindikasikan korelasi yang baik antara nilai uji dan yang diperkirakan oleh program. Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* menunjukkan bahwa model quadratic signifikan untuk dipilih karena memiliki $P < 0,05$. Pada pemilihan model berdasarkan uji simpangan model (*lack of fit*) menunjukkan $P > 0,05$ yaitu sebesar 0,3347 yang berarti ketidaktepatan model berpengaruh nyata maka pemilihan model dianggap tepat. Kesesuaian model tersebut mengindikasikan bahwa model matematis terhadap respon dapat digunakan untuk menjelaskan pengaruh dari variabel bebas dalam percobaan serta memperkirakan formulasi optimum untuk memperoleh nilai respon yang diinginkan²⁶. Interaksi antara AC (secang dan cengkeh), BC (kayu manis dan cengkeh) dan CD (cengkeh dan rosela merah) adalah signifikan ($P < 0,05$), sedangkan AB (secang dan kayu manis), AD (secang dan rosela merah), dan BD (kayu manis dan rosela merah) tidak signifikan ($P > 0,05$). Persamaan akhir untuk memprediksikan aktivitas antioksidan DPPH pada

formulasi wedang uwuh berbasis rosela merah adalah sebagai berikut:

$$Y_{\text{antioksidan}} = 37,33*A + 98,87*B - 13180,28*C + 24,80*D - 107,58*A*B + 13575,37*A*C - 6,54*A*D + 14511,44*B*C - 79,76*B*D + 13431,55*C*D$$

Berdasarkan persamaan tersebut menunjukkan bahwa koefisien linear (secang, kayu manis dan rosela merah) dan koefisien quadratic (secang dan cengkeh atau AC, kayu manis dan cengkeh atau BC, serta cengkeh dan rosela merah atau CD) memberikan efek positif terhadap respon aktivitas antioksidan. Nilai positif pada persamaan regresi mengindikasikan efek yang menguntungkan terhadap optimasi karena sinergis sedangkan nilai negatif mengindikasikan efek antagonis antara faktor dan respon²⁷. Efek terbesar dalam peningkatan nilai aktivitas antioksidan adalah interaksi antara kayu manis dan cengkeh. Peningkatan nilai aktivitas antioksidan yang tinggi diduga berasal dari senyawa epicatechin, catechin, dan procyanidin B2 pada kayu manis¹⁶.



Gambar 1. Plot Permukaan 3D bahan secang (A), kayu manis (B), dan rosela merah (D) terhadap nilai aktivitas antioksidan DPPH

Gambar 1. menunjukkan 1 dari 4 variabel bebas telah ditetapkan yaitu cengkeh sebesar 0,07 g dan 3 lainnya dapat dibandingkan pengaruh interaksinya. Pada plot permukaan terlihat bahwa semakin tinggi secang maka nilai aktivitas antioksidan semakin besar. Penurunan nilai aktivitas antioksidan disebabkan karena efek negatif dari interaksi antara secang, kayu manis dan rosela merah.

Permodelan dan Analisa Respon Total Fenol

Hasil analisa program terhadap total fenol menunjukkan bahwa model ordo yang disarankan untuk digunakan adalah model quadratic. ANOVA untuk respon total fenol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. ANOVA pada model quadratic total fenol

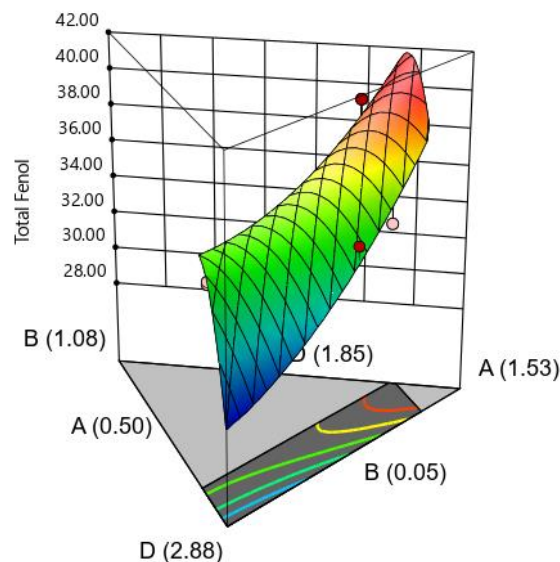
Source	Sum of squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	237.34	9	26.37	33.11	< 0.0001	significant
(¹)Linear Mixture	204.3	3	68.1	85.51	< 0.0001	
AB	3.42	1	3.42	4.29	0.0651	
AC	1.1	1	1.1	1.39	0.2662	
AD	7.14	1	7.14	8.96	0.0135	
BC	0.7632	1	0.7632	0.9583	0.3507	
BD	6.24	1	6.24	7.84	0.0188	
CD	1.14	1	1.14	1.43	0.2587	
Residual	7.96	10	0.7964			
Lack of Fit	4.52	5	0.9048	1.32	0.3855	not significant
Pure Error	3.44	5	0.688			
Cor Total	245.3	19				
R ²	0.9675					
Adjusted R ²	0.9383					
Predicted R ²	0.8562					

Tabel 4. menunjukkan bahwa model quadratic memiliki nilai R² yang mendekati 1 yaitu sebesar 0,9675 yang mengindikasikan korelasi yang baik antara nilai uji dan yang diperkirakan oleh program. Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* menunjukkan bahwa model quadratic signifikan untuk dipilih karena memiliki P<0,05. Pada pemilihan model berdasarkan uji simpangan model (*lack of fit*) menunjukkan P>0,05 yaitu sebesar 0,3855 yang berarti ketidaktepatan model berpengaruh nyata maka pemilihan model dianggap tepat. Kesesuaian model tersebut mengindikasikan bahwa model matematis terhadap respon dapat digunakan untuk menjelaskan pengaruh dari variabel bebas dalam percobaan serta memperkirakan formulasi optimum untuk memperoleh nilai respon yang diinginkan²⁶. Interaksi antara AD (secang dan rosela merah) dan BD (kayu manis dan rosela merah) adalah signifikan (P<0,05), sedangkan AB (secang dan kayu manis), AC (secang dan cengkeh), BC (kayu manis dan cengkeh), dan CD (cengkeh dan rosela merah) tidak signifikan (P>0,05). Persamaan akhir untuk

memprediksikan total fenol pada formulasi wedang uwuh berbasis rosela merah adalah sebagai berikut:

$$Y_{\text{Total Fenol}} = 42,66*A - 73,30*B + 2897,81*C + 29,71*D + 122,11*A*B - 2939,61*A*C - 9,84*A*D - 2440,13*B*C + 159,40*B*D - 2997,27*C*D$$

Berdasarkan persamaan tersebut menunjukkan bahwa koefisien linear (secang, cengkeh dan rosela merah) dan koefisien quadratic (secang dan kayu manis atau AB, serta kayu manis dan rosela merah atau BD) memberikan efek positif terhadap respon total fenol. Menurut Nilai positif pada persamaan regresi mengindikasikan efek yang menguntungkan terhadap optimasi karena sinergis sedangkan nilai negatif mengindikasikan efek antagonis antara faktor dan respon²⁷. Efek terbesar dalam peningkatan nilai total fenol yaitu pada cengkeh. Peningkatan nilai total fenol yang tinggi diduga berasal dari senyawa eugonol dan turunannya seperti eugenil asetat, β-caryophyllene, 2-heptanone, etil heksanoat, humulenol, α-humulene, calacorene dan calamenene yang banyak pada cengkeh¹⁴.



Gambar 2. Plot Permukaan 3D bahan secang (A), kayu manis (B), dan rosela merah (D) terhadap nilai total fenol

Gambar 2. menunjukkan 1 dari 4 variabel bebas telah ditetapkan yaitu cengkeh sebesar 0,07 g dan 3 lainnya dapat dibandingkan pengaruh interaksinya. Pada plot permukaan terlihat bahwa semakin tinggi secang maka nilai total fenol semakin besar. Penurunan nilai total fenol disebabkan karena efek negatif dari interaksi antara secang, kayu manis dan rosela merah.

Permodelan dan Analisa Respon Total Flavonoid

Hasil analisa program terhadap total flavonoid menunjukkan bahwa model ordo yang disarankan untuk digunakan adalah model quadratic. ANOVA untuk respon total flavonoid dapat dilihat pada Tabel 5.

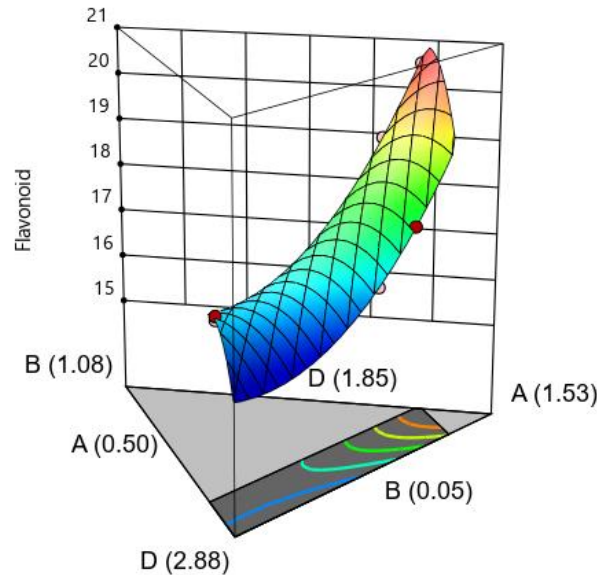
Tabel 5. ANOVA pada model quadratic total flavonoid

Source	Sum of squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	40.25	9	4.47	106.24	< 0.0001	significant
(¹)Linear Mixture	34.46	3	11.49	272.86	< 0.0001	
AB	0.4819	1	0.4819	11.45	0.007	
AC	0.0463	1	0.0463	1.1	0.3189	
AD	4.07	1	4.07	96.58	< 0.0001	
BC	0.0397	1	0.0397	0.9439	0.3542	
BD	0.6077	1	0.6077	14.44	0.0035	
CD	0.0384	1	0.0384	0.9132	0.3618	
Residual	0.4209	10	0.0421			
Lack of Fit	0.3275	5	0.0655	3.5	0.0975	not significant
Pure Error	0.0935	5	0.0187			
Cor Total	40.67	19				
R ²	0.9896					
Adjusted R ²	0.9803					
Predicted R ²	0.9484					

Tabel 5. menunjukkan bahwa model quadratic memiliki nilai R² yang mendekati 1 yaitu sebesar 0,9896 yang mengindikasikan korelasi yang baik antara nilai uji dan yang diperkirakan oleh program. Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* menunjukkan bahwa model quadratic signifikan untuk dipilih karena memiliki P<0,05. Pada pemilihan model berdasarkan uji simpangan model (*lack of fit*) menunjukkan P>0,05 yaitu sebesar 0,0655 yang berarti ketidaktepatan model berpengaruh nyata maka pemilihan model dianggap tepat. Kesesuaian model tersebut mengindikasikan bahwa model matematis terhadap respon dapat digunakan untuk menjelaskan pengaruh dari variabel bebas dalam percobaan serta memperkirakan formulasi optimum untuk memperoleh nilai respon yang diinginkan²⁶. Interaksi antara AB (secang dan kayu manis), AD (secang dan rosela merah), dan BD (kayu manis dan rosela merah) signifikan (P<0,05), sedangkan AC (secang dan cengkeh), BC (kayu manis dan cengkeh) dan CD (cengkeh dan rosela merah) adalah tidak signifikan (P>0,05). Persamaan akhir untuk memprediksikan total flavonoid pada formulasi wedang uwuh berbasis rosela merah adalah sebagai berikut:

$$Y_{\text{Total Flavonoid}} = 20,24*A - 17,01*B - 529,02*C + 16,01*D + 45,85*A*B + 601,92*A*C - 7,42*A*D + 556,73*B*C + 49,73*B*D + 549,87*C*D$$

Berdasarkan persamaan tersebut menunjukkan bahwa koefisien linear (secang, cengkeh dan rosela merah) dan koefisien quadratic (secang dan kayu manis atau AB, serta kayu manis dan rosela merah atau BD) memberikan efek positif terhadap respon total fenol. Menurut nilai positif pada persamaan regresi mengindikasikan efek yang menguntungkan terhadap optimasi karena sinergis sedangkan nilai negatif mengindikasikan efek antagonis antara faktor dan respon²⁷. Efek terbesar dalam peningkatan nilai total flavonoid yaitu pada interaksi secang dan cengkeh. Peningkatan nilai total flavonoid diduga berasal dari senyawa bioaktif pada kayu secang seperti fenol, flavonoid, tanin, 4-omethylsappannol, protosappanin A, protosappanin B, protosappanin E^{19,20} dan senyawa eugenol serta turunannya yang banyak pada cengkeh¹⁴.



Gambar 3. Plot Permukaan 3D bahan secang (A), kayu manis (B), dan rosela merah (D) terhadap nilai total flavonoid

Gambar 3. menunjukkan 1 dari 4 variabel bebas telah ditetapkan yaitu cengkeh sebesar 0,07 g dan 3 lainnya dapat dibandingkan pengaruh interaksinya. Pada plot permukaan terlihat bahwa semakin tinggi secang maka nilai total flavonoid semakin besar. Penurunan nilai total flavonoid disebabkan karena efek negatif dari interaksi antara secang, kayu manis dan rosela merah.

Optimasi Formulasi Wedang Uwuh Berbasis Rosela Merah

Optimalisasi bertujuan untuk memperoleh variabel input terbaik dan mendapatkan respon maksimal dalam formulasi wedang uwuh berbasis rosela merah. Kriteria formulasi dan respon target dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kriteria formulasi dan respon target

Kriteria	Target	Batas Bawah	Batas Atas
Kayu Secang	<i>is in range</i>	0,5	1,34
Kayu Manis	<i>is in range</i>	0,05	0,26
Bunga Cengkeh	<i>is in range</i>	0,04	0,07
Kelopak Rosela Merah	<i>is in range</i>	1,85	2,9
Aktivitas Antioksidan DPPH	<i>maximize</i>	24,1678	36,6807
Total Fenol	<i>maximize</i>	28,5549	40,3864
Total Flavonoid	<i>maximize</i>	15,88	20,53

Melalui analisa statistik dan *desirability* maka diperoleh formulasi optimal yang disarankan (prediksi dari design expert), selanjutnya dilakukan konfirmasi dan

dibandingkan dengan pengujian yang sebenarnya. Perbandingan nilai prediksi dan hasil verifikasi pengamatan di laboratorium ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Solusi titik optimum dan hasil verifikasi

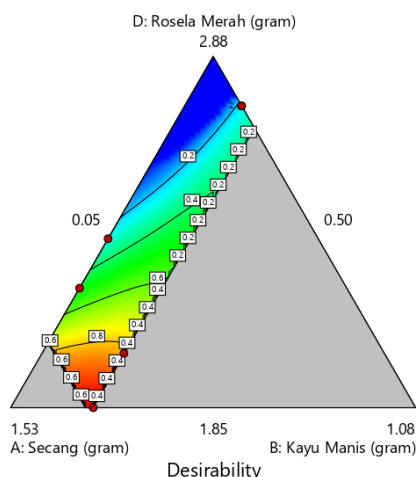
	Variabel bebas				Respon		
	Kayu Secang (g)	Kayu Manis (g)	Bunga Cengkeh (g)	Kelopak Rosela Merah (g)	Aktivitas Antioksidan DPPH (mg TE/g)	Total Fenol (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg QE/g)
Solusi					36,966	40,998	20,665
Verifikasi	1,34	0,206	0,063	1,891	37,007 ±0,0466	40,9542 ±0,0634	19,842 ±0,488
P-Value					0,267	0,354	0,100

Berdasarkan verifikasi laboratorium yang dilakukan (Tabel 7.) dengan menggunakan formulasi optimal yang disarankan *Design Expert*, diperoleh aktivitas antioksidan 37,007 ± 0,0466 mg TE/g, total fenol 40,9542 ± 0,0634 mg GAE/g, dan total flavonoid 19,842 ± 0,488 mg QE/g. Hasil verifikasi kemudian diuji menggunakan T-test pada Minitab 17 dan diperoleh P-

value>0,05 yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara nilai prediksi dan verifikasi pengujian sebenarnya terhadap ketiga respon dan kecukupan model reduksi akhir sesuai dengan RSM²⁸. Hal tersebut menjelaskan bahwa dengan formulasi kayu secang, kayu manis, bunga cengkeh dan kelopak rosela merah yang disarankan oleh optimasi *mixture design*

pada *Design Expert* baik untuk diterapkan pada pembuatan wedang uwuh untuk memperoleh respon

aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid yang maksimal.



Gambar 4. Grafik kontur plot *desirability*

Pada Gambar 4. menampilkan bahwa formulasi wedang uwuh berbasis rosela merah yang optimum ditentukan dari nilai *desirability* yang paling maksimum. Nilai tersebut menunjukkan kedekatan respon dengan nilai idealnya. Nilai *desirability* pada rancangan ini adalah 1 yang menunjukkan fungsi optimasi program yang baik dan mampu memenuhi tujuan berdasarkan kriteria respon yang diharapkan²⁹.

KESIMPULAN

Diperoleh formula solusi titik optimum dengan komposisi serbuk kelopak rosella merah 1,891 gr, serbuk kayu secang 1,34 gr, serbuk kayu manis 0,206 gr dan serbuk bunga cengkeh 0,063 gr. Didapatkan hasil verifikasi uji aktivitas antioksidan DPPH $37,01 \pm 0,05$ mg TE/g, total fenol $40,95 \pm 0,06$ mg GAE/g dan total flavonoid $19,84 \pm 0,49$ mg QE/g. Nilai *desirability* 1 yang berarti fungsi optimasi program baik.

ACKNOWLEDGEMENT

Peneliti berterima kasih kepada Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya yang telah memberikan dana penelitian ini sebagai bagian dari Penelitian Hibah Profesor Tahun 2020.

KONFLIK KEPENTINGAN DAN PENDANAAN

Penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam artikel ini. Penelitian ini didanai oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya yang telah memberikan dana penelitian sesuai dengan Pelaksanaan Keputusan Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Nomor 39 Tahun 2020 tentang Penerima Dana Program Hibah Penelitian untuk Profesor dan Doktor Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Tahun 2020.

REFERENSI

1. Valavanidis, A. & Haralambous, E. A comparative study by electron paramagnetic resonance of free radical species in the mainstream and sidestream smoke of cigarettes with conventional acetate filters and 'bio-filters'. *Redox Rep.* **6**, 161–171 (2001).
2. Ajiboye, T. O. et al. Antioxidant and drug detoxification potentials of Hibiscus sabdariffa anthocyanin extract. *Drug Chem. Toxicol.* **34**, 109–115 (2011).
3. Ulilalbab, A. & Maskanah, E. Mencegah Kenaikan LDL Serum Sprague dawley yang Dipapar Minyak Jelantah dengan Perlakuan Pemberian Seduhan Kelopak Rosella Merah. *J. Kedokt. dan Kesehatan.* **8**, 2–4 (2021).
4. Ulilalbab, A. & Maskanah, E. Pemberian Serbuk Kelopak Rosella Merah yang Diseduh Mampu Mencegah Penurunan HDL Pada Sprague dawley yang Dipapar Jelantah. *J. Ilmu Kefarmasian Indones.* **19**, 262–265 (2021).
5. Ulilalbab, A., Wirjatmadi, B. & Adriani, M. Ekstrak Kelopak Rosella Merah Mencegah Kenaikan Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok. *J. Ilmu Kefarmasian Indones.* **13**, 215–220 (2015).
6. Ulilalbab, A. & Maskanah, E. Red Rosella (Hibiscus sabdariffa Linn.) Petal Brew is Able to Reduce the Sprague Dawley MDA Rate in Rats Exposed to Waste Cooking Oil. *Folia Medica Indones.* **54**, 167 (2018).
7. Ulilalbab, A., Wirjadmadi, B. & Adriani, M. Ekstrak Kelopak Rosella Merah (Hibiscus sabdariffa Linn.) Mampu Memperbaiki Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang Diberi Paparan Asap Rokok. *J. Kesehat. Andalas* **6**, 696 (2018).
8. Septian Emma Dwi Jatmika, Kintoko, K. I. Inovasi

- Wedang Uwuh Yang Memiliki Khasiat Untuk Penderita Hipertensi Dan Diabetes Melitus. *J. Ris. Drh.* **55**–71 (2017).
9. BPOM. Peraturan Kepala BPOM RI nomor HK 00.05.52.0685. *Peratur. Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indones.* 1–13 (2005).
 10. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. & Hawkins Byrne, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* **19**, 669–675 (2006).
 11. Veena Sharma, R. P. Available Online Through Phytochemical Analysis and Evaluation Of Antioxidant Activities Of Hydro-Ethanollic Extract Of Moringa oleifera Lam. Pods. *J. Pharm. Res.* **4**, 2–5 (2011).
 12. Afroz, R. et al. DNA Damage Inhibition Properties of Sundarban Honey and its Phenolic Composition. *J. Food Biochem.* **40**, 436–445 (2016).
 13. Adaramola, B. & Onigbinde, A. Effect of Extraction Solvent on the Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Capacity Of Clove Bud Organic /Analytical Chemistry View project Food Chemistry View project Effect of Extraction Solvent on the Phenolic Content, Flavonoid Content an. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci.* **11**, 33–38 (2016).
 14. Chaieb, K. et al. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. *Mycoses* **50**, 403–406 (2007).
 15. Khristi, V., Elias, J., Dave, N. & Patel, V. Gene Expression Analysis of Anti-oxidative Enzymes in Yeast against Oxidative Stress in Presence of *Cinnamomum zeylanicum*. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* **5**, 1387–1396 (2014).
 16. Rao, P. V. & Gan, S. H. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2014**, (2014).
 17. Neswati, N. & Ismanto, S. D. Ekstraksi Komponen Bioaktif Serbuk Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*, L) dengan Metode Ultrasonikasi. *J. Teknol. Pertan. Andalas* **22**, 187–194 (2018).
 18. Yemirta. Identifikasi Kandungan Senyawa Antioksidan dalam Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*). *J. Kim. dan Kemasan* **32**, 41–46 (2010).
 19. Kimestri, A. B., Indratningsih & Widodo. Microbiological and physicochemical quality of pasteurized milk supplemented with sappan wood extract (*Caesalpinia sappan* L.). *Int. Food Res. J.* **25**, 392–398 (2018).
 20. Nadu, T. in Vitro Study on Antioxidant Activity and Phytochemical Analysis of *Caesalpinia Sappan*. *Int. J. Institutional Pharm. Life Sci.* **1**, 31–39 (2011).
 21. Miksusanti, Elfita & Hotdelina, S. Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *J. Penelit. Sains* **15**, 60–69 (2012).
 22. Wu, H., Yang, K. & Chiang, P. Roselle Anthocyanins: Antioxidant Properties and Stability to Heat and pH. **23**, 1–15 (2018).
 23. Al-hashimi, A. G. Antioxidant and antibacterial activities of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts. *African J. Food Sci.* **6**, 506–511 (2012).
 24. Liu, K., Tsao, S. & Yin, M. In Vitro Antibacterial Activity of Roselle Calyx and Protocatechuic Acid. *Phyther. Res.* **19**, 942–945 (2005).
 25. Bono, A., Sarbatly, R., Kaluvan, S., Rajin, M. & Krishnaiah, D. Effect of mixture components on the properties of MUF resin. *Int. J. Phys. Sci.* **3**, 045–049 (2008).
 26. Borhan, F. P., Abd Gani, S. S. & Shamsuddin, R. The use of D-optimal mixture design in optimising okara soap formulation for stratum corneum application. *Sci. World J.* **2014**, (2014).
 27. Woitiski, C. B., Veiga, F., Ribeiro, A. & Neufeld, R. Design for optimization of nanoparticles integrating biomaterials for orally dosed insulin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **73**, 25–33 (2009).
 28. Mirhosseini, H., Tan, C. P., Taherian, A. R. & Boo, H. C. Modeling the physicochemical properties of orange beverage emulsion as function of main emulsion components using response surface methodology. *Carbohydr. Polym.* **75**, 512–520 (2009).
 29. Raissi, S. & Farsani, R. E. Statistical process optimization Through multi-response surface methodology. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* **39**, 280–284 (2009).