

Potensi Antibakteri Minuman Fungsional Tradisional Jawa (Wedang Uwuh) Berdasarkan Variasi Waktu Rebusan

[*The Antibacterial Potential of Traditional Javanese Functional Beverage (Wedang Uwuh) Based on Boiling Time Variation*]

Whika Febria Dewatisari^{1)*} dan Hariyadi²⁾

¹⁾ Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Terbuka, Tangerang, Indonesia

²⁾ Program Studi Agribisnis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Terbuka, Tangerang, Indonesia

Diterima 27 Maret 2023 / Direvisi 17 November 2023 / Disetujui 3 Desember 2023

ABSTRACT

*Wedang uwuh is a functional beverage prepared by boiling a combination of spices, namely sappan wood, ginger, nutmeg leaves, cinnamon leaves, cloves, and clove leaves. It is reported to have antioxidant, antibacterial, and immune-enhancing properties due to its active compounds. This traditional beverage shows potential in reducing infections caused by *Escherichia coli*, highlighting the importance of proper preparation methods. The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of wedang uwuh prepared by different boiling duration (5, 10, 15, and 20 min) to determine the optimal time for maximum effectiveness. Phytochemical changes, as indicated by color alterations, were assessed by a descriptive approach while a disc diffusion method was used as an antibacterial assay to measure the inhibition zone diameter against *E. coli*. Compounds in each treatment were analyzed using GC-MS. Phytochemical screening confirmed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids, and tannins in all variations. Antibacterial testing revealed that boiling for 15 min exhibited the highest activity, with an inhibition zone diameter of 10.43 ± 1.33 mm, reflecting strong antibacterial efficacy. This result significantly differed from the 5 and 10 min treatments. The 5 min boiling treatment demonstrated a smaller inhibition zone with an average diameter of 5.71 ± 1.67 mm, indicating moderate antibacterial activity, but it did not differ significantly from the 10 min treatment. A chemical analysis by GC-MS for the 15 min boiling sample successfully identified 23 compounds, and among these chemicals, hexadecanoic acid was found as the predominant component.*

Keywords: antibacterial, traditional functional beverage, wedang uwuh

ABSTRAK

Wedang uwuh adalah minuman fungsional yang disajikan dengan merebus bahan-bahan seperti kayu secang, jahe, daun pala, daun kayu manis, cengkih, dan daun cengkih. Wedang uwuh berperan sebagai antioksidan dan antibakteri, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh karena kaya akan senyawa aktif. Minuman tradisional ini berpotensi mengurangi infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli*. Oleh karena itu, penyajian yang tepat diperlukan untuk mengatasi infeksi tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri wedang uwuh dengan variasi lama perebusan (5, 10, 15, dan 20 menit) untuk menentukan waktu optimal yang menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik. Perubahan fitokimia yang ditunjukkan dengan perubahan warna dinilai dengan pendekatan deskriptif, metode difusi cakram digunakan sebagai uji antibakteri untuk mengukur diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli*. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada setiap perlakuan dianalisis menggunakan uji GC-MS. Hasil skrining fitokimia menunjukkan keberadaan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin pada keempat variasi rebusan. Uji antibakteri menunjukkan bahwa waktu perebusan selama 15 menit memiliki aktivitas antibakteri terbaik dengan diameter zona hambat sebesar $10,43 \pm 1,33$ mm, yang dapat dikategorikan sebagai aktivitas antibakteri kuat. Hasil ini berbeda secara signifikan dengan perlakuan rebusan selama 5 dan 10 menit. Perlakuan rebusan selama 5 menit menunjukkan zona hambat terkecil dengan rata-rata diameter sebesar $5,71 \pm 1,67$ mm, yang diklasifikasikan sebagai aktivitas antibakteri sedang, namun tidak berbeda secara signifikan dengan perlakuan rebusan selama 10 menit. Analisis kimia dengan GC-MS pada perebusan 15 menit mengidentifikasi adanya 23 senyawa, dengan senyawa *hexadecenoic acid* sebagai senyawa yang paling dominan.

Kata kunci: antibakteri, minuman fungsional, wedang uwuh

*Penulis Korespondensi: E-mail: whika@ecampus.ut.ac.id

PENDAHULUAN

Salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi saluran pencernaan manusia adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini dapat dengan mudah menular melalui konsumsi makanan dan minuman yang terkontaminasi. *E. coli* menjadi penyebab utama enteritis, infeksi saluran kemih (ISK), septikemia, peritonitis pasca bedah, dan infeksi klinis lainnya. Selain itu, *E. coli* juga merupakan salah satu patogen manusia yang paling berpengaruh dalam menyebabkan infeksi melalui makanan, bersama dengan bakteri lainnya. Bakteri ini juga menghasilkan enterotoxin yang dapat menyebabkan diare (Tortorello dan Batt, 2014; Ramos *et al.*, 2020).

Cara menanggulangi infeksi bakteri adalah dengan pengobatan secara alami maupun buatan. Bahan alam dari tumbuhan masih menjadi alternatif pengobatan penyakit karena memiliki risiko yang lebih kecil dibandingkan obat kimia. Rempah-rempah menyediakan banyak senyawa aktif yang memiliki potensi menanggulangi berbagai macam penyakit. Umumnya, tumbuhan obat disuguhkan dalam wujud minuman kesehatan seperti jamu, sirup, jus, dan minuman instan (Palimbong *et al.*, 2020).

Salah satu minuman tradisional Indonesia yang kaya akan rempah adalah wedang uwuh. Wedang uwuh merupakan minuman tradisional Indonesia yang berasal dari Yogyakarta. Minuman ini terdiri atas berbagai rempah yang kaya antioksidan, yaitu kayu secang, kapulaga, pala, kayu manis, jahe, cengkeh, daun pala, daun kayu manis, ranting cengkeh, cengkeh, dan daun cengkeh. Kandungan senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri banyak terdapat pada bagian daun dan batang secang (Widyaningsih *et al.*, 2020; Palimbong *et al.*, 2020). Minuman secang memiliki kandungan total fenol tertinggi dibandingkan minuman lainnya. Namun, jika hanya menggunakan kayu secang saja dalam formulasi minuman secang, maka kandungan total fenolnya akan menjadi rendah (Nurainy *et al.*, 2022). Jahe memiliki kandungan senyawa aktif seperti gingerol dan shogaol. Kedua senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari kerusakan sel akibat radikal bebas. Selain itu, gingerol dan shogaol juga memiliki sifat antibakteri yang dapat membantu melawan infeksi bakteri. Oleoresin adalah fraksi aktif pada jahe yang kandungannya didominasi oleh komponen fenolik. Kandungan oleoresin pada jahe berkisar 4–7,5% (Ashokkumar *et al.*, 2022). Ashokkumar *et al.* (2022) mengumpulkan berbagai penelitian pala dalam bidang farmakologi sebagai chemoprotective, antioksidan, afrodisiak, antimikroba, hepatoprotektif, dan antiinflamasi. Berbagai manfaat tersebut membuktikan bahwa pala memiliki potensi sebagai sumber bahan alam yang berguna dalam pengobatan dan pencegahan berbagai penyakit. Frohlich *et al.* (2019)

menyatakan bahwa senyawa-senyawa yang terdapat dalam minyak cengkeh antara lain eugenol, caryophyllene, eugenol asetat, dan α-humulene, dengan eugenol sebagai senyawa yang paling banyak terkandung. Sementara itu, kapulaga memiliki kandungan berbagai senyawa seperti minyak atsiri, sineol, terpineol, borneol, protein, gula, lemak, silikat, betakamfer, sebinena, mirkena, mirtenal, karvona, terpinil asetat, dan kersik (Ginting *et al.*, 2021). Dengan berbagai kandungan bioaktif tersebut, kapulaga dapat menanggulangi penyakit batuk. Di sisi lain, kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) memiliki sumber antioksidan dan antibakteri yang baik. Senyawa-senyawa seperti sinamatdehid, eugenol, asam sinamat, katekin, epikatekin, dan senyawa polifenol lainnya terkandung dalam kayu manis. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam kayu manis ini memiliki potensi sebagai antibakteri dan antihiperglikemia (Ginting *et al.*, 2021). Daun kayu manis juga mengandung alkaloid, flavonoid, fenilik hidrokuinon, saponin, dan tanin (Hou *et al.*, 2023). Daun kayu manis mengandung senyawa-senyawa aktif seperti eugenol, sinamatdehid, dan asam sinamat yang memiliki sifat antibakteri. Oleh karena itu, salah satu cara untuk mengawetkan daging buah mahkota dewa adalah dengan menggunakan daun kayu manis sebagai bahan pengawet alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Studi yang dilakukan oleh Parasthi *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa etanol yang terkandung dalam daun kayu manis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Chairunnisa *et al.* (2017) melaporkan bahwa minyak daun kayu manis dengan konsentrasi 250 µg/mL memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Pada mulanya, masyarakat mengolah ramuan wedang uwuh ini hanya dengan cara direbus. Berdasarkan studi Adji (2021), proses pembuatan wedang uwuh diawali dengan pencampuran bahan-bahan seperti jahe dan bahan lainnya seperti secang, kayu manis, ranting bunga, daun dan bunga cengkeh, daun pala, kapulaga, dan gula batu dengan air, lalu campuran direbus hingga 20 menit. Setelah itu disaring dan dituangkan ke dalam gelas atau cangkir. Seiring dengan perkembangan zaman, terdapat penyajian dalam bentuk lain seperti diseduh dari bahan-bahan yang sudah dikeringkan. Varian lainnya yang berkembang dari minuman ini adalah berupa serbuk yang langsung dapat diseduh dengan air panas dan berupa sirup yang dapat langsung dikonsumsi.

Penyajian dengan cara penyeduhan lebih praktis dan menghemat waktu tetapi dalam menyerap senyawa-senyawa aktif dari bahannya kurang maksimal, sehingga khasiat dari minuman wedang uwuh sendiri menjadi berkurang. Penyajian dengan cara direbus memiliki keunggulan karena dengan pemanasan bahan-bahan wedang uwuh akan mengeluarkan metabolit sekunder yang bermanfaat bagi tubuh

secara maksimal (Setyowati *et al.*, 2023). Menurut Fauziah *et al.* (2023), penyajian yang disertai dengan pemanasan ini dapat membantu untuk membuka vakuola pada tanaman karena mengandung zat bioaktif yang memiliki manfaat pengobatan dan berguna bagi kesehatan.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, aktivitas antioksidan cenderung menurun seiring dengan semakin lama proses pemanasan. Hal ini disebabkan karena selama proses pemanasan terjadi kerusakan pada senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan (Widyaningsih *et al.*, 2020) (Fauziah *et al.*, 2023). Hasil penelitian Adji (2021) yang menguji variasi lama rebusan wedang uwuh menunjukkan potensi aktivitas antioksidan terbaik diperoleh IC₅₀ 40,3548 ppm terdapat pada rebusan 10 menit.

Penelitian yang sudah dilakukan oleh Adji (2021) dan Fauziah *et al.* (2023) banyak mengkaji mengenai aktivitas antioksidan wedang uwuh, sedangkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan-bahan wedang uwuh tersebut juga sangat memungkinkan memiliki aksi sebagai antibakteri. Penelitian yang berkaitan dengan aktivitas antibakteri berdasarkan variasi lama perebusan wedang uwuh belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, optimasi waktu perebusan untuk menghasilkan senyawa antibakteri dalam rebusan wedang uwuh diperlukan. Tujuan penelitian ini adalah melakukan pengujian terhadap aktivitas antibakteri dalam wedang uwuh serta mengidentifikasi senyawa yang terkandung di dalamnya berdasarkan variasi waktu perebusan. Selain itu, penelitian ini akan memastikan aktivitas antibakteri dari wedang uwuh ini berkurang, bertahan, atau meningkat selama perebusan dengan interval waktu yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan untuk bahan rebusan wedang uwuh adalah jahe 5 cm, daun pala 3 lembar, daun kayu manis 2 lembar, kayu secang 40 g, bunga cengkeh 10 buah dan daun cengkeh 2 lembar, yang didapatkan dari pasar Beringharjo, Yogyakarta. Bahan-bahan kering tersebut (20 g) direbus pada suhu 70 °C dalam 300 mL akuades untuk masing-masing perlakuan yaitu dengan durasi 5, 10, 15, dan 20 menit. Bahan yang digunakan untuk uji antibakteri adalah bakteri *E. coli* dengan konsentrasi 1,5×10⁶ CFU/mL yang setara dengan 0,5 standar McFarland.

Uji fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan uji warna terdiri dari identifikasi golongan alkaloid, identifikasi golongan flavonoid, identifikasi golongan saponin,

identifikasi golongan tanin, dan identifikasi golongan triterpenoid.

Uji alkaloid

Sebanyak 1 mL sampel dicampur dengan dua tetes reagen Dragendorff (Sigma-Aldrich, Amerika Serikat) dan membentuk sebuah endapan. Campuran lalu ditambah 10 mL amonia (Merck, Jerman) dan 2 mL kloroform (Merck, Jerman). Selanjutnya dicampur dengan 10 tetes H₂SO₄ (Merck, Jerman) hingga terbentuk 2 lapisan. Setelah terbentuk, lapisan tersebut dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi berukuran 2,5 mL. Selanjutnya, larutan tersebut diuji dengan menggunakan pereaksi Dragendorff. Hasil reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi merah jingga (Hanani, 2019; Arsene *et al.*, 2022).

Uji flavonoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan dengan FeCl₃ (Sigma-Aldrich, Amerika Serikat). Jika mengandung flavonoid setelah penambahan larutan ini, maka terbentuk warna biru kehijauan. Selanjutnya, sampel ditambahkan 5 mL etanol (Merck, Jerman). Kemudian larutan ditaraskan selama 5 menit dan ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Setelah itu, larutan ditambahkan dengan 0,2 g serbuk Mg (Merck, Jerman). Adanya flavonoid pada sampel ditunjukkan oleh timbulnya warna merah cokelat setelah melakukan prosedur tersebut (Hanani, 2019; Arsene *et al.*, 2022).

Uji triterpenoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan dua tetes H₂SO₄ pekat dan 10 tetes CH₃COOH (Merck, Jerman). Larutan tersebut dikocok dan didiamkan dalam rentang waktu beberapa menit. Jika terjadi perubahan warna larutan menjadi ungu, merah keunguan, atau merah pada sampel yang sedang diuji, hal tersebut menunjukkan adanya kandungan triterpenoid (Hanani, 2019; Arsene *et al.*, 2022).

Uji saponin

Pemeriksaan kandungan saponin pada suatu sampel, dilakukan dengan cara mencampurkan 1 mL sampel dengan 10 mL akuades. Kemudian campuran tersebut dikocok secara kuat selama 1 menit agar seluruh komponen dalam sampel tercampur merata dengan larutan akuades dan dapat diuji kandungan saponinnya. Proses pengocokan yang dilakukan secara kuat bertujuan meningkatkan efektivitas pengadukan dan memastikan bahwa campuran telah tercampur secara homogen. Setelah selama 10 menit didiamkan, diamati busa yang terbentuk. Kehadiran busa pada ketinggian 1–3 cm setelah 10 menit merupakan indikasi positif adanya kandungan saponin dalam sampel yang dianalisis.

Uji tanin

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL sampel dan dua tetes FeCl_3 pada 10 mL air panas. Sampel mengandung tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Hanani, 2019; Arsene et al., 2022).

Uji antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan 1 mL air rebusan untuk diuji aktivitas antibakterinya. Bakteri uji yang digunakan adalah *E. coli* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^6$ CFU/mL yang setara dengan Standar McFarland 0,5. Standar ini menggunakan komposisi 0,05 mL BaCl_2 (Merck, Jerman) dan 9,95 mL H_2SO_4 . Uji antibakteri yang digunakan adalah metode cakram difusi dengan menggunakan kertas cakram (Advantec, Amerika Serikat). Kontrol positif menggunakan antibiotik *ciprofloxacin* (OGB Dexa, Indonesia). Kontrol negatif menggunakan akuades. Pembuatan media menggunakan *pour plate method* dengan bahan *nutrient agar* (Merck, Jerman) dan *nutrient broth* (HiMedia, India). Uji antibakteri dilakukan dengan tiga kali ulangan setiap perlakuan. Diameter penghambatan di sekitar cakram diamati dan diukur setelah diinkubasi selama 24 jam.

Identifikasi senyawa bioaktif menggunakan GC-MS

Sekitar 1 mL dari setiap perlakuan dilarutkan dalam 1 mL etanol. Larutan kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring (Whatman no 42), dan 0,5 μL larutan diinjeksikan ke dalam GC-MS (Shimadzu GC-MS-QP2010S, Jepang) yang dioperasikan menggunakan kolom kaca sepanjang 30 m, diameter 0,25 mm, dan setebal 0,25 μm . Fase diam yang digunakan adalah CP-Sil 5 C.B. dengan temperatur oven terprogram 70-260 °C dengan laju kenaikan temperatur 10 °C/menit, gas pembawa helium pada tekanan 12 kPa, laju 50 mL/min, dan rasio split 1:50. Standar ionisasi menggunakan *electron ionization* (EI) pada suhu 250 °C dengan *analyzer quadrupole* pada suhu 250 °C.

Analisis data

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi waktu perebusan dan variabel terikat adalah aktivitas antibakteri pada wedang uwuh. Semua percobaan dilakukan dengan tiga kali ulangan. Hasil yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis untuk uji fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan melihat perubahan warna yang terjadi setelah direaksikan dengan zat uji. Uji antibakteri dianalisis secara kuantitatif. Data diolah dengan menggunakan SPSS 26 dan dianalisis menggunakan uji one way

ANOVA, kemudian dilakukan uji lanjut dengan Uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%. Identifikasi senyawa bioaktif hasil analisis GC-MS dipaparkan secara deskriptif.

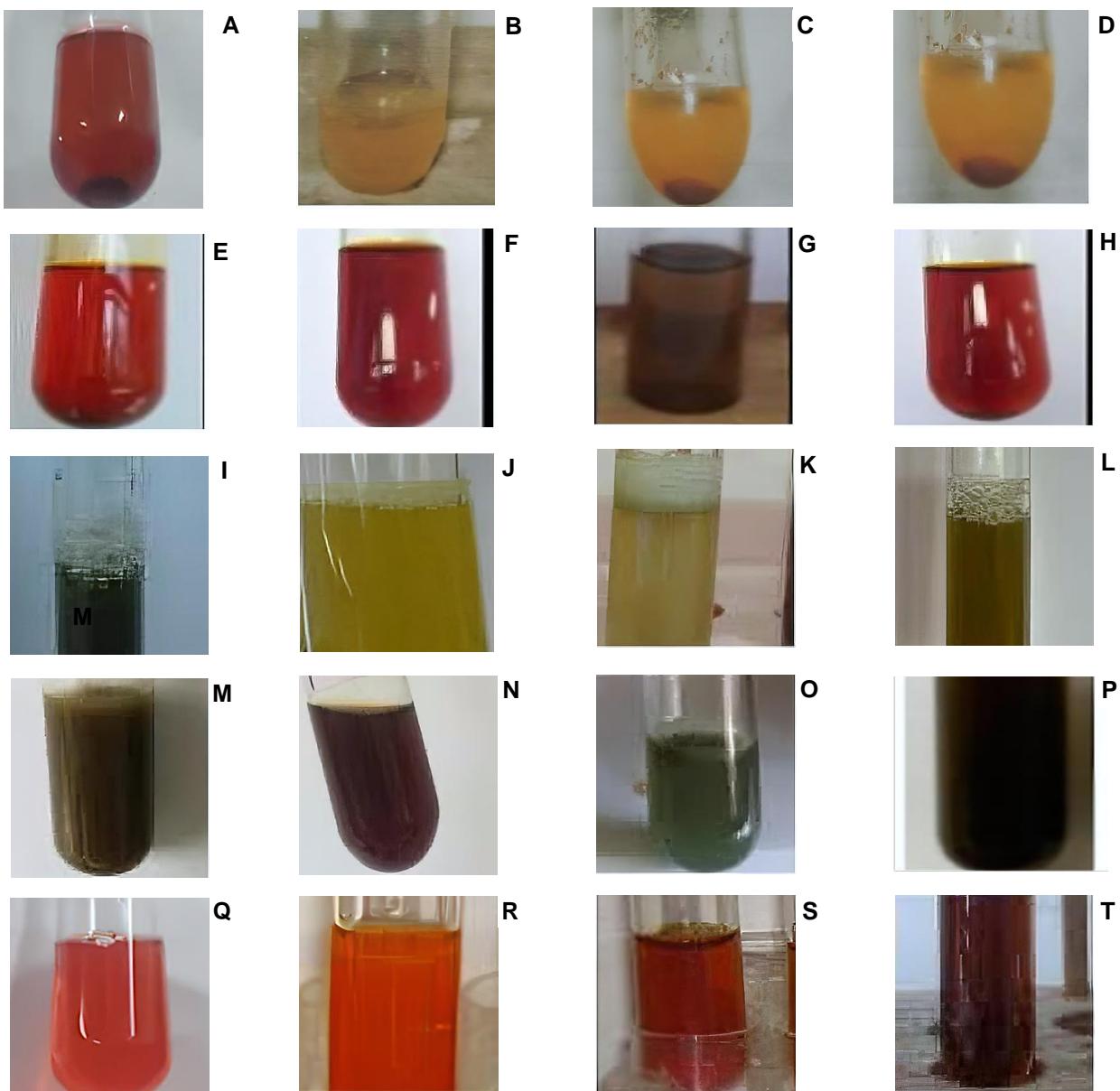
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan fitokimia

Analisis fitokimia yang terdiri atas uji alkaloid, uji flavonoid, saponin, dan tannin menunjukkan keempat perlakuan perebusan 5, 10, 15, dan 20 menit mengandung semua kelompok senyawa yang diuji. Hal ini dibuktikan dengan perubahan warna yang menunjukkan positif adanya senyawa-senyawa tersebut (Gambar 1 dan Tabel 1). Menurut Velavan (2015), tujuan dari analisis fitokimia adalah untuk menentukan karakteristik senyawa aktif yang dapat menyebabkan efek toksik atau efek yang bermanfaat. Prosedur fitokimia sangat penting dan digunakan secara luas dalam berbagai rumpun ilmu tumbuhan.

Pada pemeriksaan alkaloid, hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat muda hingga merah. Pada pengujian flavonoid, perubahan warna larutan menjadi hitam kemerahan setelah penambahan bubuk magnesium menunjukkan adanya hasil positif. Hasil ini terjadi karena adanya senyawa flavonoid yang direduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium, sehingga menyebabkan terbentuknya warna hitam kemerahan tersebut (Harborne, 1987). Uji saponin diketahui positif jika terbentuk busa yang stabil dan tidak hilang setelah beberapa menit. Uji tannin menunjukkan hasil positif jika larutan berwarna hijau karena adanya 2 gugus hidroksil pada inti aromatik tanin. Pada uji terpenoid, adanya triterpen/steroida ditandai dengan munculnya warna ungu dan merah atau perubahan menjadi warna hijau biru (Harborne, 1987).

Penelitian terdahulu telah mendeteksi komponen bioaktif dari beberapa bahan-bahan wedang uwuh. Zat bioaktif yang dimiliki secang seperti *chalcones*, kumarin, *xanthone*, flavonoid, dan *brazilin*, yang semuanya termasuk kedalam golongan fenolik (Nirmal et al., 2015). Senyawa yang dominan terkandung dalam secang adalah *brazilin*. *Brazilin* memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *E. coli* (Krihariyani et al., 2020; Romruen et al., 2022). Pala (*Myristica fragrans*) diketahui mengandung senyawa flavonol, flavon, flavanon, *chalcones*, isoflavonoid, dan *anthocyanin* yang memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan dan antikanker (Nagja et al., 2016; Francis et al., 2018). Daun cengklik mengandung eugenol yang memiliki aktivitas antikanker (Frohlich et al., 2019).



Keterangan: A= uji alkaloid perebusan 5 menit, B= uji alkaloid perebusan 10 menit, C= uji alkaloid perebusan 15 menit, D= uji alkaloid perebusan 20 menit, E= uji flavonoid perebusan 5 menit, F= uji flavonoid perebusan 10 menit, G= uji flavonoid perebusan 15 menit, H= uji flavonoid perebusan 20 menit, I= uji saponin perebusan 5 menit, J= uji saponin perebusan 10 menit, K= uji saponin perebusan 15 menit, L= uji saponin perebusan 20 menit, M= uji tanin perebusan 5 menit, N= uji tanin perebusan 10 menit, O= uji tanin perebusan 15 menit, P= uji tanin perebusan 20 menit, Q= uji triterpenoid perebusan 5 menit, R= uji triterpenoid perebusan 10 menit, S= uji triterpenoid perebusan 15 menit, T= uji triterpenoid perebusan 20 menit

Note: A= alkaloid test in the 5 min boiling treatment, B= alkaloid test in the 10 min boiling treatment, C= alkaloid test in the 15 min boiling treatment, D= alkaloid test in the 20 min boiling treatment, E= flavonoid test in the 5 min boiling treatment, F= flavonoid test in the 10 min boiling treatment, G= flavonoid test in the 15 min boiling treatment, H= flavonoid test in the 20 min boiling treatment, I= saponin test in the 5 min boiling treatment, J= saponin test in the 10 min boiling treatment, K= saponin test in the 15 min boiling treatment, L= saponin test in the 20 min boiling treatment, M= tannin test in the 5 min boiling treatment, N= tannin test in the 10 min boiling treatment, O= tannin test in the 15 min boiling treatment, P= tannin test in the 20 min boiling treatment, Q= triterpenoid test in the 5 min boiling treatment, R= triterpenoid test in the 10 min boiling treatment, S= triterpenoid test in the 15 min boiling treatment, T= triterpenoid test in the 20 min boiling treatment

Gambar 1. Uji warna fitokimia dari variasi lama rebusan bahan wedang uwuh
Figure 1. Phytochemical color test of various boiling durations of wedang uwuh ingredients

Tabel 1. Uji warna fitokimia dari variasi lama rebusan bahan wedang uwuh

Table 1. Phytochemical color test of various boiling durations of wedang uwuh ingredients

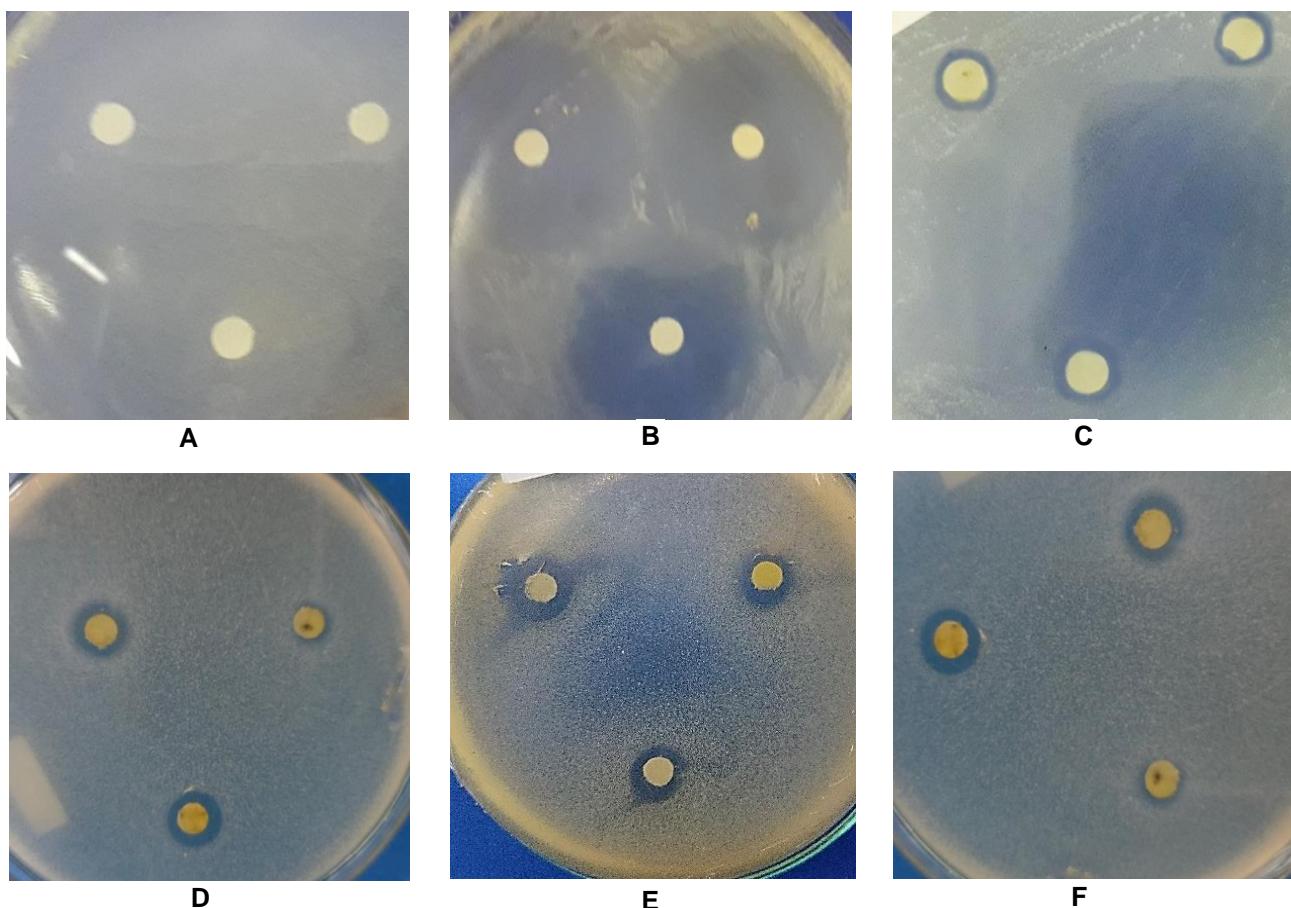
Jenis Uji (Phytochemicals)	Hasil dari Perlakuan Lama Rebusan (menit) (Observation Results Based on Boiling Time (min))				Pengamatan Reaksi Positif (Interpretation)	Keterangan (Note)
	5	10	15	20		
Alkaloid	Endapan cokelat (Brown precipitate)	Endapan cokelat oranye (Orange brown precipitate)	Endapan kuning kecokelatan (Brownish yellow precipitate)	Kuning kecokelatan (Brownish yellow precipitate)	Endapan cokelat (Orange or deep brown precipitate)	(+)
Flavonoid	Merah (Red)	Merah (Red)	Coklat (Brown)	Merah (Red)	Merah hingga cokelat (A reddish brown)	(+)
Saponin	Terdapat busa (Foam formed)	Terdapat busa (Foam formed)	Terdapat busa (Foam formed)	Terdapat busa (Foam formed)	Tinggi busa yang stabil pada kisaran 1–10 cm selama 10 menit setelah pencampuran (Produce foam that last for more than 10 min)	(+)
Tanin	Hijau kehitaman (Blackish green)	Hijau kehitaman (Blackish green)	Hijau (Green)	Hijau keunguan (Blackish green)	Warna hijau violet (Purplish green-black)	(+)
Triterpenoid	Merah (Red)	Merah (Red)	Merah (Red)	Merah cokelat keunguan (Purplish Red-Brown)	Warna merah atau ungu (Red or Purple)	(+)

Hasil uji aktivitas antibakteri

Berdasarkan uji antibakteri (Gambar 2 dan Tabel 2) diperoleh hasil pengamatan zona hambat wedang uwuh terhadap bakteri *E. coli* dengan variasi waktu rebusan. Diameter paling besar diperoleh dari rebusan 15 menit dengan rata-rata diameter $10,43 \pm 1,33$ mm dengan kategori aktivitas antibakteri kuat, dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan rebusan selama 5 dan 10 menit. Zona hambat terkecil diperoleh dari perlakuan rebusan 5 menit dengan rata-rata zona hambat sebesar $5,71 \pm 1,67$ mm dengan aktivitas antibakteri sedang, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan perebusan selama 10 menit. Perebusan selama 20 menit menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih kecil dibandingkan dengan perebusan selama 10 menit. Aktivitas antibakteri pada perebusan selama 20 menit termasuk kategori sedang di zona hambat $6,17 \pm 0,76$ mm.

Lamanya perebusan selama 15 menit memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik. Hal ini disebabkan karena durasi pemanasan yang sesuai menyebabkan banyaknya zat bioaktif dari bahan-bahan wedang uwuh yang tertarik keluar, terutama zat bioaktif yang memiliki aksi sebagai antibakteri. Akan tetapi waktu perebusan yang terlalu lama menyebabkan penurunan aktivitas antibakteri komponen bioaktif yang rusak akibat pemanasan. Hal ini dapat

dilihat dari waktu perebusan selama 20 menit yang menghasilkan zona diameter penghambatannya lebih kecil dibandingkan perebusan 15 menit. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan pada rosemary (*Rosmarinus officinalis*) dan basil (*Ocimum sanctum* Linn) yang banyak digunakan sebagai bahan teh herbal. Perebusan rosemary dan basil yang semakin lama menyebabkan aktivitas antioksidan dan antimikroba juga menurun. Aktivitas perebusan 5 menit pada teh herbal memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan perebusan 15 menit, sedangkan perebusan selama 10 menit memiliki aktivitas antibakteri yang optimal (Salamatullah et al., 2021). Bertambahnya waktu perebusan biji kelor (*Moringa oleifera*) mengakibatkan kandungan tanin, fenolik, saponin, dan fitat menurun (Musa dan Njidda, 2021). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji antibakteri wedang uwuh, aktivitas antibakteri yang optimal adalah waktu perebusan 15 menit. Menurut Salamatullah et al. (2021), lamanya waktu perebusan mempunyai pengaruh yang besar terhadap khasiat obat dari jamu tradisional. Kemampuan ini karena adanya senyawa antibakteri yang dibuktikan dengan hasil positif pada berbagai uji fitokimia (Dewatisari, 2022; Dewatisari et al., 2021).



Keterangan: A=akuades, B=ciprofloxacin, C=ekstrak hasil perebusan selama 5 menit, D=ekstrak hasil perebusan selama 10 menit, E=ekstrak hasil perebusan selama 15 menit, F=ekstrak hasil perebusan selama 20 menit

Note: A=distilled water, B=ciprofloxacin, C=extract from 5 min boiling, D=extract from 10 min boiling, E=extract from 15 min boiling, F=extract from 20 min boiling

Gambar 2. Zona penghambatan dari variasi waktu rebusan bahan wedang uwuh terhadap *E. coli*
Figure 2. Inhibition zone of wedang uwuh extract resulted from various boiling duration against *E. coli*

Tabel 2. Diameter zona hambat rebusan bahan wedang uwuh dengan variasi waktu rebusan terhadap *E. coli*
Table 2. Inhibition zone diameter of wedang uwuh boiled with various durations against *E. coli*

Bahan Uji (Materials)	Diameter Penghambatan (mm) (Inhibition Zone (mm))	Aktivitas Antibakteri (Antibacterial Activity)
Akuades (-) (Aquadest (-))	0.00±0.00 ^a	Lemah (Weak)
Ciprofloxacin (+)	24.87±1.86 ^d	Sangat kuat (Very strong)
Bahan rebusan 5 menit (Extract from 5 min boiling)	5.71±1.67 ^b	Sedang (Moderate)
Bahan rebusan 10 menit (Extract from 10 min boiling)	6.67±1.53 ^b	Sedang (Moderate)
Bahan rebusan 15 menit (Extract from 15 min boiling)	10.43±1.33 ^c	Kuat (Strong)
Bahan rebusan 20 menit (Extract from 20 min boiling)	6.17±0.76 ^b	Sedang (Moderate)

Keterangan: Nilai pada tabel ± standar deviasi merupakan rerata dari tiga kali ulangan. Nilai yang diikuti notasi huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut Tukey ($p<0,05$) setelah dilakukan analisis ragam (ANOVA)

Note: The values in the table with ± standard deviation represents the mean of three replications. Values followed by the same letter notation in each column indicate no significant difference based on Tukey's multiple comparison test ($p<0.05$) after conducting an analysis of variance (ANOVA)

Aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dipengaruhi oleh komponen bioaktif yang dihasilkan oleh setiap bahan seperti kayu secang, kapulaga, pala, kayu manis, jahe, cengklik, ranting cengklik, daun cengklik,

daun pala, dan daun kayu manis. Semakin beragam komponen wedang uwuh memberikan kontribusi terhadap peningkatan aktivitas antibakterinya. Secara tradisional, tanaman secang (*Caesalpinia sappan L.*)

digunakan masyarakat sebagai obat untuk disentri dan diare serta penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *E. coli*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Palimbong *et al.* (2020), viskositas dan tingkat kesukaan dipengaruhi oleh lama perebusan. Semakin lama durasi merebus, kekentalan semakin meningkat dan tingkat kesukaan panelis lebih besar. Akan tetapi perebusan yang semakin lama dapat menurunkan ataupun bisa menghilangkan kandungan zat bioaktif dalam secang tersebut (Kriharyani *et al.*, 2020; Romruen *et al.*, 2022). Buah kapulaga (*Amomum compactum*) memiliki senyawa bioaktif yang menunjukkan berbagai aktivitas antibakteri dengan kapasitas yang cukup besar (Hartady *et al.*, 2020; Alkandahri *et al.*, 2021). Pala juga mempunyai aktivitas antibakteri dan antibiofilm terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Cherian *et al.*, 2019). Ekstrak dan minyak atsiri daun pala memiliki potensi aktivitas terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang sensitif dan resisten (Thileepan *et al.*, 2017). Ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan *minimum bactericidal concentration* (MBC) sebesar 10% dengan zona hambat $9,63 \pm 0,59$ mm. Ekstrak kayu manis diketahui juga sangat efektif sebagai antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro* (Parisa *et al.*, 2019). Demikian juga minyak atsiri dari daun kayu manis memiliki banyak zat bioaktif dan berpotensi sebagai antibakteri (Yu *et al.*, 2020). Studi menunjukkan bahwa ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) segar dan kering menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* mirip dengan kemampuan beberapa antibiotik standar. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut potensial sumber obat antibakteri (Njobdi *et al.*, 2018). Aktivitas anti-mutagenik cengkeh (*Syzygium aromaticum*), dapat digunakan untuk mengembangkan agen baru guna mengurangi toksitas yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* (Lu dan Morden, 2014; Chen *et al.*, 2022; Ode *et al.*, 2023). Eugenol dalam daun cengkeh diketahui memiliki banyak khasiat farmakologi, seperti antijamur, antibakteri, dan aktivitas antioksidan. Eugenol juga memiliki aktivitas terhadap sel kanker (Frohlich *et al.*, 2019).

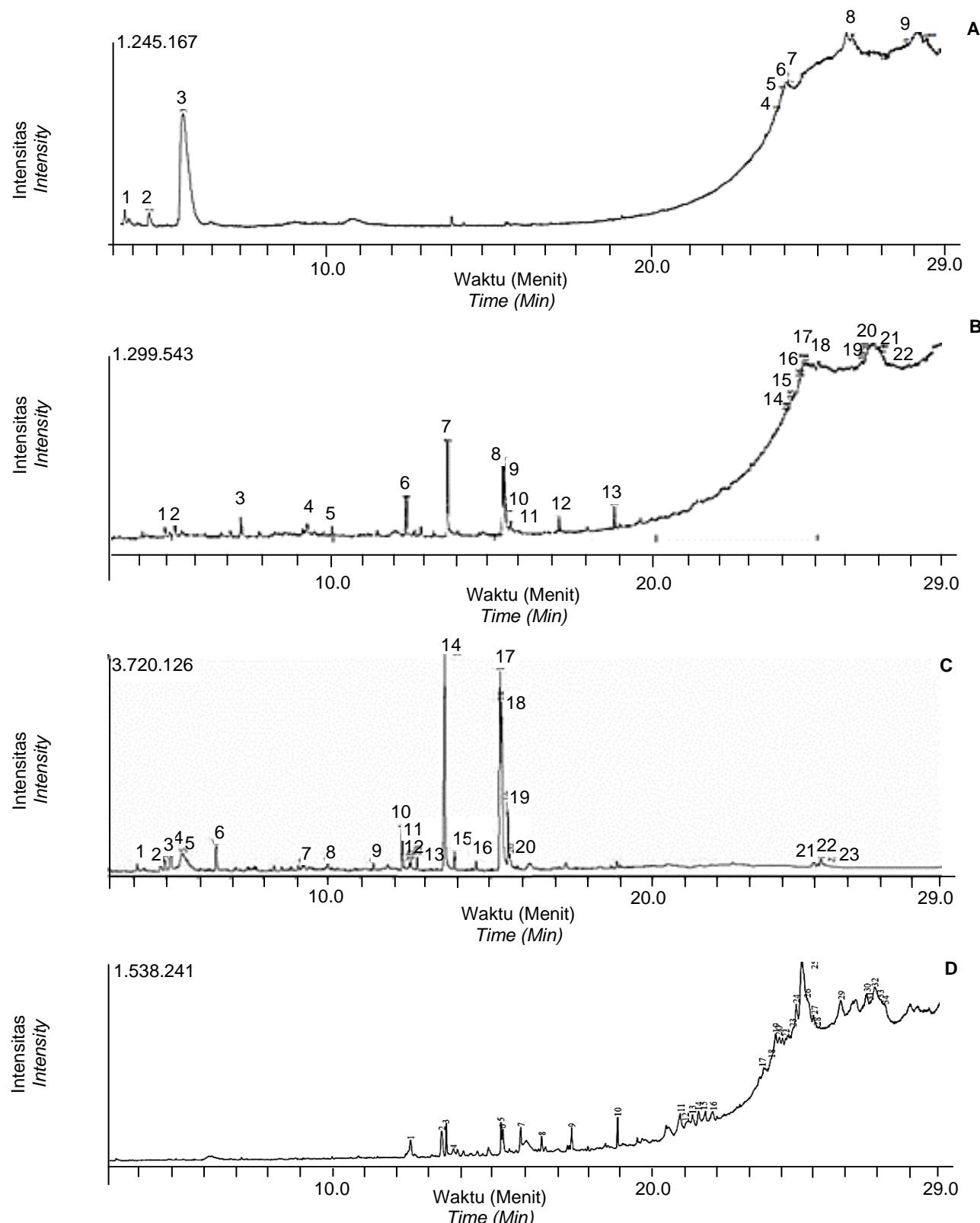
Adanya bahan-bahan bioaktif dari masing-masing bahan, memungkinkan potensi yang cukup besar sebagai antibakteri karena senyawa-senyawa tersebut dimungkinkan bekerja secara sinergis menghambat pertumbuhan bakteri. Tumbuhan mengandung banyak metabolit dan senyawa yang masing-masing mampu bekerja secara sinergis atau antagonis. Kondisi komponen kompleks bersama dengan komponen senyawa lainnya diperlukan agar komponen senyawa tersebut dapat memberikan dampak yang paling efektif (Nur dan Nugroho, 2018; da Silva *et al.*, 2021; Dewatisari *et al.*, 2023; Dewatisari dan To'bungan, 2023). Interaksi sinergis adalah interaksi yang aktivitas gabungannya dari dua atau lebih senyawa kimia lebih besar dibandingkan

aktivitas masing-masing senyawa (Caesar dan Cech, 2019).

Senyawa fitokimia

Identifikasi senyawa fitokimia dengan GC-MS menunjukkan perbedaan jumlah senyawa yang terdeteksi pada setiap perlakuan (Gambar 3). Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa perlakuan perebusan selama 5, 10, 15, dan 20 menit masing masing menghasilkan 16, 22, 23, dan 26 yang terdeteksi sebagaimana terlihat dari kromatogram. Durasi perebusan yang semakin lama menghasilkan bertambah jumlah senyawa yang terdeteksi. Akan tetapi semakin lama perebusan dapat menurunkan aktivitas biologis. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Salamatullah *et al.* (2021) yang menemukan bahwa semakin lama perebusan maka kandungan senyawa terutama fenolik di dalam teh herbal meningkat. Teh herbal ini terdiri dari bahan rosemary dan basil. Beberapa senyawa pada *Petroselinum crispum*, *Trigonellafoenum graecum* dan *Cymbopogon citratus* yang dihasilkan dari perlakuan perebusan selama 30 menit menunjukkan peningkatan konsentrasi dibandingkan perebusan selama 10 dan 20 menit. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik meningkat ketika herbal dipanaskan selama 10 menit dan kemudian secara bertahap menurun pada pemanasan lebih lanjut. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan durasi pemanasan berdampak buruk terhadap aktivitas biologis. Salah satunya adalah terjadi degradasi beberapa enzim terjadi ketika tumbuhan diberi perlakuan panas dalam jangka waktu yang lebih lama (Nadeem *et al.*, 2022).

Sebagian besar senyawa pada rebusan wedang uwuh selama 5 menit mengandung senyawa dari golongan asam lemak. Persentase senyawa terbesar adalah *hexadecenoic acid*. Senyawa lain dengan jumlah dominan setelah *hexadecenoic acid* yang terdeteksi adalah *hexadecamethyl-octasiloxane*, *eicosadienoic acid*, methyl ester (Tabel 3). Senyawa dominan yang dideteksi pada ekstrak hasil perebusan 10 menit diantaranya adalah *hexa-decanoic acid*, *octadecanoic acid*, dan *N-methyl-2-lodopyrrole*. Senyawa terbesar yang terdeteksi adalah *hexadecanoic acid* (Tabel 4). Perebusan selama 15 menit menghasilkan ekstrak yang didominasi oleh *hexadecanoic acid*, *9,12-Octadeca-dienoic acid*, *methyl ester*, dan *5-Hydroxymethyl-2-furancarbaldehyde*. Senyawa terbesar yang terkandung adalah *hexadecanoic acid* (Tabel 5). Perebusan selama 20 menit kandungan senyawanya lebih beragam yang terdeteksi dibandingkan dengan perebusan 5, 10, dan 15 menit. Sebagian berasal dari senyawa golongan asam lemak (*oleic acid*, *3-(octadecyloxy)propyl ester*), sesquiterpene (*Isochia-pin B*), gula alcohol (*D-mannitol*, *1-decylsulfo-nyl*), steroid (*4-.beta.-h-pregna*).



Keterangan: A= ekstrak hasil perebusan selama 5 menit, B= ekstrak hasil perebusan selama 10 menit, C= ekstrak hasil perebusan selama 15 menit, D= ekstrak hasil perebusan selama 20 menit

Note: A= extract from 5 min boiling, B= extract from 10 min boiling, C= extract from 15 min boiling, D= extract from 20 min boiling

Gambar 3. Kromatogram hasil GC-MS rebusan wedang uwuh berdasarkan variasi waktu rebusan
Figure 3. Chromatogram of GC-MS results of boiled wedang uwuh based on boiling time variations

Senyawa dengan kelimpahan atau persentase area terbesar pada perebusan 20 menit adalah *cyclotrisiloxane, hexamethyl-(CAS) 1,1,3,3,5,5-hexamethylcyclohexa siloxane* (Tabel 6).

Dari empat perlakuan perebusan, senyawa yang sering muncul dan dominan adalah *hexadecenoic acid*. Senyawa ini banyak terdeteksi pada perebusan 5 sampai 15 menit. Di perebusan 20 menit, senyawa ini terdeteksi hanya tidak dominan. *Hexadecenoic acid* merupakan golongan asam lemak yang sering digunakan dalam industri farmasi dan dikenal sebagai antimikroba (Da Silva *et al.*, 2021; Dewatisari *et al.*, 2022). *Hexadecenoic acid* diketahui memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap beberapa bakteri patogen klinis seperti *Staphylococcus aureus* W35, *Pseudomonas aeruginosa* D31, *Klebsiella pneumoniae* DF30, dan *K. pneumoniae* (Shaaban *et al.*, 2021). Diduga *hexadecenoic acid* merupakan senyawa dominan yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada wedang uwuh.

Pada perebusan 20 menit senyawa yang dominan terdeteksi adalah *D-mannitol 1-decylsulfonyl*. Senyawa *D-mannitol 1-decylsulfonyl* ini juga ditemukan pada kacang *doum palm* (*Hypha enethbeica* L) yang merupakan makanan yang sering dikonsumsi masyarakat Nigeria (Adekoyeni *et al.*, 2019). Senyawa *4.-beta.-h-pregna* terkandung di dalam beras wangi hitam yang terdapat di Jaipur, India (Asem *et al.*, 2017). Kurangnya aktivitas antibakteri dari perla-

kuan rebusan 20 menit diduga karena senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya tidak bekerja secara sinergis dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*. Keefektifan kerja sinergis senyawa-senyawa sebagai agen antibakteri sangat diperlukan untuk memberikan aktivitas yang maksimal (Nur dan Nugroho, 2018). Selain itu juga mungkin disebabkan oleh panas yang dapat merusak dinding sel pada saat mendidih. Bahan aktif seperti senyawa fenolik menurun aktivitasnya karena pemanasan yang lebih lama (Hayat *et al.*, 2019; Karrar *et al.*, 2020).

Efek antibakteri juga dipengaruhi oleh senyawa-senyawa lainnya yang terkandung dari bahan-bahan wedang uwuh. Senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam minuman ini memiliki berbagai manfaat terapeutik dan farmasi seperti *oleic acid*, *3-(octadecyloxy)propyl*, asam palmitat, *cyclotrisiloxane, hexamethyl-(CAS) 1,1,3,3,5,5-hexamethyl-cyclohexa siloxane*, *octadecanoic acid*, *isochiardin-B* dan *neophytadiene*. Senyawa seperti *oleic acid*, *3-(octadecyloxy)propyl ester* ditemukan pada kayu gaharu (*Aquilaria sinensis*) yang berpotensi sebagai anti bakteri dan antioksidan (El-Naggar *et al.*, 2023). Senyawa ini juga ditemui pada tanaman buah Jambu Juwet (*Syzygium cumini*) yang biasa diproduksi sebagai selai, minuman, *wine*, jus dan jelly (Kumar *et al.*, 2022). Selain itu juga *oleic acid*, *3-(octadecyloxy)propyl ester* terkandung dalam *mustard* dan *wine* (Manghani *et al.*, 2023).

Tabel 3. Analisis GC-MS komponen kimia rebusan wedang uwuh selama 5 menit
Table 3. GC-MS analysis of the chemical components of boiled wedang uwuh for 5 min

Waktu (Retention Time)	Area (Area)	Area (%) (Area (%))	Rumus Molekul (Formula)	Nama Senyawa (Compound Name)
11.710	105844	3.08	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	2,3,3-trimethyl-2-(4-methyl-pentanoyl)-cyclopentanone
13.544	497229	14.48	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	hexadecanoic acid
13.887	60500	1.76	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	hexadecanoic acid, ethyl ester
15.250	266628	7.77	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	11,14-eicosadienoic acid, methyl ester
15.306	242436	7.06	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	9,12,15-octadecatrienoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester, (Z,Z,Z)-
18.726	66050	1.92	C ₁₈ H ₃₆ O	octadecanal
23.775	65841	1.92	C ₁₄ H ₁₈ O ₂	2,2-dimethyl-7-methoxy-4-chromanone ethylene dithioketal
23.983	286067	8.33	C ₁₆ H ₅₀ O ₇	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-octasiloxane
24.343	411776	11.99	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	cyclotrisiloxane, hexamethyl-(CAS) 1,1,3,3,5,5-hexamethyl cyclohexasiloxane
24.492	391221	11.40	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	cyclotetrasiloxane, octamethyl-(CAS) 1,1,3,3,5,5,7,7-octamethyl-cyclooctasiloxane
24.642	183709	5.35	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	Spirostan-3-one, (5.alpha.,25R)- (CAS) tigogenone
24.823	177405	5.17	C ₁₂ H ₃₈ O ₅ Si ₆	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-hexasiloxane
25.936	70849	2.06	C ₁₂ H ₂₂ Si ₂	benzene, 1,4-bis(trimethylsilyl)
26.042	197905	5.76	C ₁₅ H ₂₆ O	capnellane-5.alpha.-ol
26.292	68319	1.99	C ₂₁ H ₄₄ O ₃ Si	palmitic acid, 2-(trimethylsiloxy)ethyl ester (CAS) glycol-1-palmitate-TMS
28.000	103895	3.03	C ₂₄ H ₃₈ O ₂ Si ₂	2,3-bis(trimethylsiloxy)-2,3-bis(4'-methylphenyl)butane

Tabel 4. Analisis GC-MS komponen kimia rebusan wedang uwuh selama 10 menit
Table 4. GC-MS analysis of the chemical components of boiled wedang uwuh for 10 min

Waktu Retensi (Retention Time)	Area (Area)	Area (%) (Area (%))	Rumus Molekul (Formula)	Nama Senyawa (Compound name)
4.808	168694	1.67	C ₈ H ₈ O	benzofuran, 2,3-dihydro-
5.118	175011	1.74	C ₅ H ₆ O ₄	butanedioic acid, methylene-
7.166	282120	2.80	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	1-(3,6,6-trimethyl-1,6,7,7a-tetrahydro-cyclopenta[C]Pyran-1-Yl)-ethanone
9.210	212139	2.10	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	ethanone, 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-
9.992	128887	1.28	C ₁₃ H ₁₈ O	megastigmatrienone 2
12.282	439336	4.36	C ₂₀ H ₃₈	neophytadiene
13.552	1294514	12.84	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	hexadecanoic acid
15.261	1061633	10.53	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	9,12-octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-
15.325	1283710	12.73	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	9,12,15-octadecatrienoic acid, methyl ester,
15.442	112714	1.12	C ₁₃ H ₂₈ O	tridecanol
15.514	218399	2.17	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	octadecanoic acid
17.017	175291	1.74	C ₁₆ H ₃₂ O	hexadecanal
24.033	149882	1.49	C ₁₆ H ₂₈	cyclobuta[1,2,3,4]dicyclooctene,hexadecahydro-, (6a.alpha.,6b.alpha.,12a.alpha.,12b.alpha.)-
24.225	124646	1.24	C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O ₂	3-(3-Amino-2-cyclohexylethynyl)-4-methoxy-2(1H)-quinolinone
24.467	125375	1.24	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	9-octadecenoic acid (Z)-
24.568	506297	5.02	C ₁₅ H ₂₄ F ₆ O ₂	1,3-dioxolane, 4-ethyl-5-octyl-2,2-bis(trifluoromethyl)-, trans-
24.658	136037	1.35	C ₈ H ₄ FeO ₈	(tetrahydroxycyclopentadienone)tricarbonyliron(0)
26.392	141274	1.40	C ₁₆ H ₂₈	cyclobuta[1,2,3,4]dicyclooctene,hexadecahydro-, (6a.alpha.,6b.alpha.,12a.alpha.,12b.alpha.)-
26.517	317742	3.15	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	octadecanoic acid, 15-oxo-, methyl ester
26.608	703065	6.97	C ₁₃ H ₁₉ N O ₆	methyl 5-nitro-2,11-dioxo-cycloundecane-1-carboxylate
26.747	1698564	16.85	C ₅ H ₆ I N	n-methyl-2-iodo-pyrrole
27.008	373072	3.70	C ₁₉ H ₃₄ O ₃ SI	(2.alpha.,3.alpha.,4a.beta.,5.beta.,8a.alpha.)-(+)-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-4a,7,7-trimethyl-5-[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyl]oxy]naphth[2,3]

Oleic acid merupakan asam lemak omega-9 yang memiliki beberapa manfaat kesehatan. Senyawa ini terdapat dalam telur, daging, keju, minyak zaitun, dan kacang-kacangan. *Cyclotrisiloxane, hexamethyl-* (CAS) 1,1,3,3,5,5-hexamethyl-cyclohexasiloxane, ditemukan juga di dalam tanaman ketepeng cina (*Cassia alata*) yang juga sering digunakan sebagai obat tradisional untuk antijamur (Chimi et al., 2023). *Isochiapin-B* dilaporkan dapat digunakan sebagai zat penyedap makanan pada berbagai macam kue kering dan minuman. Senyawa ini ditemukan dalam tumbuhan jeruk manis (*Citrus aurantium L*) (Değirmenci dan Erkurt, 2020). Senyawa ini juga ditemukan dalam buah kei apel (*Dovyalis caffra*) yang berfungsi sebagai antikanker, antioksidan, antivirus, dan antimikroba (Qanash et al., 2022). Senyawa *N-methyl-2-iodo-pyrrole* menunjukkan % area tertinggi yang terdeteksi di waktu rebusan 5 menit. Senyawa ini juga ditemukan pada buah pome (*Punica granatum*) yang berpotensi sebagai antivirus, antibakteri, antioksidan, dan antikanker (Al-Huqail et al., 2018).

Berdasarkan uji kandungan fitokimia, uji antibakteri serta identifikasi senyawa, waktu perebusan wedang uwuh yang memiliki potensi antibakteri adalah 15 menit. Meskipun kandungan senyawa

yang terdapat di dalamnya lebih sedikit daripada perlakuan perebusan 20 menit, namun senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya mampu menghambat bakteri *E. coli* paling baik. Senyawa yang dominan dari perlakuan perebusan 5, 10, dan 15 menit adalah *hexadecenoic acid*. Senyawa ini berasal dari golongan asam lemak yang sering terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini mempunyai peran sebagai antibakteri (Dewatisari et al., 2023). *Hexadecenoic acid* juga ditemukan dalam minuman probiotik nektar sawit (*Borassus flabellifer*) (Pammi et al., 2021), minuman dari kembang rosella (*Hibiscus sabdariffa*) (Sim dan Nyam, 2021), Crabapples (apel liar) (Zeng et al., 2022), kopi gayo arabica (Lestari et al., 2022), minuman susu cokelat (Coutinho et al., 2019) dan produk fermentasi lainnya (Savinova et al., 2022). Selain *hexadecenoic acid*, senyawa kedua terbanyak terdeteksi adalah *Octadecenoic acid*. *Octadecenoic acid* ditemukan dalam minuman nutraceutical dari ekstrak kulit nanas madu (*Ananas comosus*) dan jeruk manis (*Citrus sinensis*) yang dilengkapi dengan ekstrak daun sereh (*Cymbopogon citratus*) (Fasuan et al., 2023), susu fermentasi segar (Paszczyk et al., 2016), minuman teh hijau (*Camellia sinensis*) (Ahmad et al., 2015).

Tabel 5. Analisis GC-MS komponen kimia rebusan wedang uwuh selama 15 menit
 Table 5. GC-MS analysis of the chemical components of boiled wedang uwuh for 15 min

Waktu Retensi (Retention Time)	Area (Area)	Area (%) (Area (%))	Rumus Molekul (Formula)	Nama Senyawa (Compound Name)
4.122	256014	0.57	C ₅ H ₆ O ₅	2-oxo-pentanedioic acid
4.839	424293	0.95	C ₈ H ₈ O	2,3-dihydro-benzofuran
4.972	340357	0.76	C ₉ H ₁₄ O ₄	2-penten-1,5-disaeure, diethylester (glutaconsaeureethylester)
5.174	895596	2.00	C ₉ H ₁₄ O ₄	2-penten-1,5-disaeure, diethylester (glutaconsaeureethylester)
5.519	229381	5.13	C ₆ H ₆ O ₃	5-hydroxymethyl-2-furancarbaldehyde
6.551	102137	2.28	C ₆ H ₆ O ₆	aconitic acid
9.216	275088	0.62	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	4-methyl-2,5-dimethoxybenzaldehyde
9.990	207899	0.47	C ₁₃ H ₁₈ O	megastigmatrienone
11.403	195421	0.44	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	tetradecanoic acid
12.283	132825	2.97	C ₂₀ H ₃₈	neophytadiene
12.494	414258	0.93	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	pentadecanoic acid
12.548	321333	0.72	C ₂₀ H ₄₀ O	2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-,
12.742	421211	0.94	C ₂₀ H ₄₀ O	2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-,
13.598	101894	22.79	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	hexadecanoic acid
13.888	479470	1.07	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	hexadecanoic acid, ethyl ester
14.550	308762	0.69	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	heptadecanoic acid
15.305	973682	21.78	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	9,12-octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-
15.351	775137	17.34	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	heptadecene-(8)-carbonic acid-(1)
15.532	207979	4.65	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	9-octadecenoic acid (Z)-
15.583	543498	1.22	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	9-octadecenoic acid (Z)-, ethyl ester
25.000	264269	0.59	C ₁₅ H ₂₆ O	(3aS,9aS,9bR)-6,6,9aa-trimethyl-trans-perhydronaphtho[2,1-b]furan
25.247	433501	9.70	C ₅ H ₁₃ B	borane, diethylmethyl-
25.392	619693	1.39	C ₂₈ H ₄₈ O ₄	ergost-25-ene-3,5,6,12-tetrol, (3.beta.,5.alpha.,6.beta.,12.beta.)-

Peluang minuman tradisional Indonesia sebagai minuman fungsional sangat besar untuk dikembangkan, karena minuman ini mengandung beragam senyawa bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan tubuh. Beberapa senyawa tersebut memiliki manfaat sebagai antioksidan, antikanker, hipokolesterolemia, antosteoporosis, antidiare, dan antimikroba. Wedang uwuh merupakan minuman herbal tradisional yang memiliki khasiat karena mengandung banyak senyawa bioaktif dari rempah-rempah yang merupakan ramuan minuman tersebut. Banyak penelitian yang membuktikan bahwa bahan-bahan yang terkandung dalam wedang uwuh merupakan rempah bermanfaat bagi kesehatan. Selain itu, tren makanan sehat saat ini lebih banyak mengarah pada bahan-bahan alami dan murni. Bahan-bahan tersebut memiliki potensi dalam membantu mengatasi berbagai macam penyakit seperti meredakan batuk, asam lambung, diabetes, diare, masuk angin, darah tinggi,

memperlancar peredaran darah, kolesterol, asam urat dan lain sebagainya. Berdasarkan hal tersebut, peluang wedang uwuh sebagai minuman fungsional dan minuman yang berkhasiat obat sangat besar. Minuman tradisional ini diduga memiliki efek samping yang kecil karena bersumber dari biohayati, dan yang paling banyak dieksplorasi adalah tanaman ini memiliki potensi dalam menanggulangi penyakit. Di samping itu, bahan-bahan berkualitas untuk membuat wedang uwuh mudah ditemukan dan harganya terjangkau (Fitriarni *et al.*, 2022). Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut mengenai wedang uwuh berkaitan dengan potensi lainnya seperti antikanker dan antitoksik. Penelitian yang mengkaji senyawa-senyawa aktif yang paling berperan dalam setiap bahannya juga diperlukan serta termasuk cara senyawa tersebut dapat berinteraksi secara sinergis sehingga dapat menanggulangi beberapa penyakit.

Tabel 6. Analisis GC-MS komponen kimia rebusan wedang uwuh selama 20 menit
Table 6. GC-MS analysis of the chemical components of boiled wedang uwuh for 20 min

Waktu Retensi (Retention Time)	Area (Area)	Area (%) (Area (%))	Rumus Molekul (Formula)	Nama Senyawa (Compound name)
12.424	472630	1.35	C ₂₀ H ₃₂	(E,E,E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-1,3,6,10,14-pentaene
13.394	810774	2.32	C ₂₀ H ₃₂	(6E,8E,10E)-2,6,11,15-tetramethyl-2,6,8,10,14-hexadecapentaene
13.541	5164443	1.47	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	hexadecanoic acid
13.766	340076	0.97	C ₁₀ H ₁₈ O	d-fenchyl alcohol
15.252	499366	1.43	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	9,12-octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-
15.312	614211	1.75	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	8,11,14-eicosatrienoic acid
15.863	403233	1.15	C ₂₀ H ₃₂	(6E,8E,10E)-2,6,11,15-tetramethyl-2,6,8,10,14-hexadecapentaene
16.522	278876	0.80	C ₂₀ H ₃₂	(E,E,E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-1,3,6,10,14-pentaene
17.458	398031	1.14	C ₁₈ H ₃₆ O	hexadecane, 1-(ethenyoxy)-
18.893	412753	1.18	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
21.634	486495	1.39	C ₁₉ H ₄₀	pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-
21.866	489048	1.40	C ₃₉ H ₇₄ O ₆	dodecanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester
23.675	748162	2.14	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	cyclotrisiloxane, hexamethyl-
24.043	1083875	3.10	C ₃₉ H ₇₆ O ₃	oleic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester
24.150	2023701	5.78	C ₁₆ H ₃₄ O ₇	d-mannitol, 1-decylsulfonyl
24.383	1208938	3.45	C ₁₂ H ₂₂ Si ₂	benzene, 1,4-bis(trimethylsilyl)-
24.475	1886618	5.39	C ₁₉ H ₂₂ O ₆	Isochiapin B
24.824	2229763	6.37	C ₁₆ H ₂₈	cyclotrisiloxane, hexamethyl- (CAS) 1,1,3,3,5,5-hexamethyl-cyclohexasiloxane
25.017	645345	1.84	C ₂₅ H ₄₃ BO ₄	pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-(butyl boronate), (3.alpha.,5.beta.,11.beta.,20R)
25.150	355195	1.01	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	cyclotrisiloxane, hexamethyl-
25.868	1161977	3.32	C ₅₁ H ₉₈ O ₆	octadecanoic acid, 3-[[(1-oxohexadecyl)oxy]-2-[(1-oxotetradecyl)oxy]propyl ester
26.672	744457	2.13	C ₃₄ H ₆₆ O ₂	9-octadecenoic acid (Z)-, hexadecyl ester
26.792	452854	1.29	C ₁₄ H ₂₄ O ₃ Si ₂	trimethylsilyl ester of 5-methyl-2-trimethylsilyloxy-benzoic Acid
26.926	1980679	5.66	C ₂₁ H ₃₆	4-.beta.-h-pregna
27.125	406428	1.16	C ₂₂ H ₄₃ BrO ₂	undecansaure, 11-bromo-, Undecylester
27.258	678430	1.94	C ₃₉ H ₇₄ O ₆	dodecanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester

KESIMPULAN

Hasil uji skrining fitokimia, semua sampel wedang uwuh yang direbus dengan variasi waktu perebusan selama 5, 10, 15, dan 20 menit mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan triterpenoid. Pada pengujian aktivitas antibakteri, waktu perebusan wedang uwuh yang paling optimal adalah selama 15 menit dengan zona penghamatan paling besar terhadap pertumbuhan *E. coli*. Identifikasi senyawa pada durasi ini memiliki 23 senyawa dan senyawa yang paling dominan adalah senyawa hexadecanoic acid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Terbuka, khususnya Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM), atas fasilitas yang telah diberikan dalam proses pembuatan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

Adekoyeni, O. O., Ajayi, F., & Adegoke, A. (2019). GC-MS analysis and identification of pharmacological components of doum palm

- nuts. *Nigerian Journal of Scientific Research*, 18(5), 571–578.
- Adji, G. D. P. (2021). The effect of variations in boiling time of wedang uwuh on antioxidant activity using DPPH method (2,2 diphenyl-1-picryl-hidrazyl). [Skripsi]. Sukoharjo: Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
- Ahmad, M., Baba, W. N., Gani, A., Wani, T. A., Gani, A., & Masoodi, F. A. (2015). Effect of extraction time on antioxidants and bioactive volatile components of green tea (*Camellia sinensis*), using GC/MS. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1106387. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1106387>
- Al-Huqail, A. A., Elgaaly, G. A., & Ibrahim, M. M. (2018). Identification of bioactive phytochemical from two *Punica* species using GC-MS and estimation of antioxidant activity of seed extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(7), 1420–1428. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(22\)60163-8](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(22)60163-8)
- Alkandahri, M. Y., Shafirany, M. Z., Rusdin, A., Agustina, L. S., Pangaribuan, F., Fitrianti, F., Farhamzah, Kusumawati, A. H., Sugiharta, S., Arfania, M., & Mardiana, L. A. (2021). *Amomum compactum*: A review of pharmacological studies. *Plant Cell Biotechnology Molecular Biology*, 22(33&34), 61–69.
- Arsene, M. M., Viktorovna, P. I., Sergei, G. V., Hajjar, F., Vyacheslavovna, Y. N., Vladimirovna, Z. A., Aleksandrovna, V. E., Nikolayevich, S. A., & Sachivkina, N. (2022). Phytochemical analysis, antibacterial and antibiofilm activities of *Aloe vera* aqueous extract against selected resistant gram-negative bacteria involved in urinary tract infections. *Fermentation*, 8(11), 626. <https://doi.org/10.3390/fermentation8110626>
- Asem, I. D., Imotomba, R. K., & Mazumder, P. B. (2017). The deep purple color and the scent are two great qualities of the black scented rice (Chakha) of Manipur. *Advances in International Rice Research*, 8, 125–136. <http://doi.org/10.572/67193>
- Ashokkumar, K., Simal-Gandara, J., Murugan, M., Dhanya, M. K., & Pandian, A. (2022). Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) essential oil: A review on its composition, biological, and pharmacological activities. *Phytotherapy Research*, 36(7), 2839–2851. <https://doi.org/10.1002/ptr.7491>
- Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2019). Synergy and antagonism in natural product extracts: When 1+1 does not equal 2. *Natural Product Reports*, 36(6), 869–888. <https://doi.org/10.1039/C9NP00011A>
- Chairunnisa, C., Tamhid, H. A., & Nugraha, A. T. (2017). Gas chromatography-mass spectrometry analysis and antibacterial activity of *Cinnamomum burmanii* essential oil to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by gaseous contact. International Conference on Chemistry, Chemical Process and Engineering (IC3PE) 2017: 020073. Yogyakarta, 15–16 November 2016: AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/1.4978146>
- Chen, L., Chen, X., Bai, Y., Zhao, Z. N., Cao, Y. F., Liu, L. K., Jiang, T., & Hou, J. (2022). Inhibition of *Escherichia coli* nitroreductase by the constituents in *Syzygium aromaticum*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 20(7), 506–517. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(22\)60163-8](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(22)60163-8)
- Cherian, T., Ali, K., Fatima, S., Saquib, Q., Ansari, S. M., Alwathnani, H. A., Al-Khedhairy, A. A., Al-Shaeri, M., & Musarrat, J. (2019). *Myristica fragrans* bio-active ester functionalized ZnO nanoparticles exhibit antibacterial and antibiofilm activities in clinical isolates. *Journal of Microbiological Methods*, 166, 105716. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105716>
- Chimi, S. F., Ewonkem, M. B., Tiakouang, E. N., Moto, J. O., Adjieufack, A. I., Deussom, P. M., Mbock, M. A., Wansi, D. J., & Toze, A. F. (2023). *In vitro* and *in silico* studies of antibacterial activities of secofriedelane derivatives from *Senna alata* (L) Roxb. *Natural Product Research*, 17, 1–14. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2247537>
- Coutinho, N. M., Silveira, M. R., Fernandes, L. M., Moraes, J., Pimentel, T. C., Freitas, M. Q., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Ranadheera, C. S., Borges, F. O., Neto, R. P. C., Tavares, M. I. B., Fernandes, F. A. N., Fonteles, T. V., Nazzaro, F., Rodrigues, S., & Cruz, A. G. (2019). Processing chocolate milk drink by low-pressure cold plasma technology. *Food Chemistry*, 278, 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.061>
- da Silva, G. C., de Veras, B. O., de Assis, C. R. D., do Amaral Ferras Navarro, D. M., Diniz, D. L. V., Santos, F. A. B. D., de Oliveira Farias de Aguiar, J. C. R., da Silva, M. V., & Correia, M. T. D. S. (2021). Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic effects with conventional antibiotics under clinical isolates by essential oil of *Hymenaea rubriflora* Ducke (FABACEAE). *Natural Product Research*, 35(22), 4828–4832. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1729150>
- Değirmenci, H., & Erkurt, H. (2020). Relationship between volatile components, antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil, hydrosol and extracts of *Citrus aurantium* L.

- flowers. *Journal of Infection and Public Health*, 13(1), 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.06.017>
- Dewatisari, W., Nugroho, L. H., Retnaningrum, E., & Purwestri, Y. A. (2022). Antibacterial and anti-biofilm-forming activity of secondary metabolites from *Sansevieria trifasciata*-leaves against *Pseudomonas aeruginosa*. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 33(1), 100–109. <https://doi.org/10.22146/ijp.2815>
- Dewatisari, W., Nugroho, L. H., Retnaningrum, E., & Purwestri, Y. A. (2021). The potency of *Sansevieria trifasciata* and *S. cylindrica* leaves extracts as an antibacterial against *Pseudomonas aeruginosa*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(1), 408–415. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220150>
- Dewatisari, W. F., Nugroho, L. H., Retnaningrum, E., & Purwestri, Y. A. (2023). Inhibition of protease activity and anti-quorum sensing of the potential fraction of ethanolic extract from *Sansevieria trifasciata* Prain leaves against *Pseudomonas aeruginosa*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 28(1), 23–30. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.73649>
- Dewatisari, W. F., & To'bungan, N. (2023). Biological activity and phytochemistry of *Dracaena angolensis* Welw. ex Carrière. *Plant Science Today*, 10(4), 206–214. <https://doi.org/10.14719/pst.2498>
- El-Naggar, H. M., Shehata, A. M., & Morsi, M. A. A. (2023). Micropropagation and GC–MS analysis of bioactive compounds in bulbs and callus of white squill. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 59(1), 154–166. <https://doi.org/10.1007/s11627-023-10333-9>
- Fasuan, T. O., Oni, K., Uchegbu, N. N., Olagunju, T. M., & Adepeju, A. B. (2023). Bioactivity evaluation of nutriceutical drink from *Ananas comosus* and *Citrus sinensis* rind extracts supplemented with *Cymbopogon citratus* leaf extract. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(4), 3874–3885. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01887-8>
- Fauziah, I. N., Prangdimurti, E., & Palupi, N. S. (2023). Bioaccessibility of antioxidant capacity of wedang uwuh a traditional indonesian beverage by gastrointestinal digestion. *Current Research in Nutrition & Food Science*, 11(1), 376–388. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.11.1.28>
- Fitriarni, D., Rifkowaty, E. E., Martanto, M., Verawaty, N., & Purwanto, D. (2022). Phenol levels and antidia-betic functional drinks combination of black tea and singkil (*Premna serrafolia*). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 22(3), 267–278. <https://doi.org/10.25181/jppt.v22i3.2218>
- Francis, S. K., James, B., Varughese, S., & Nair, M. S. (2019). Phytochemical investigation on *Myristica fragrans* stem bark. *Natural Product Research*, 33(8), 1204–1208. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1457670>
- Frohlich, P. C., Santos, K. A., Palu, F., Cardozo-Filho, L., da Silva, C., & da Silva, E. A. (2019). Evaluation of the effects of temperature and pressure on the extraction of eugenol from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves using supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*, 143, 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.09.009>
- Ginting, E. V., Retnaningrum, E., & Widiasih, D. A. (2021). Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum β-lactamase-producing bacteria. *Veterinary World*, 14(8), 2206. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2206-2211>
- Hanani, E. (2019). Analisis fitokimia. Universitas Sanata Dharma. Egc Medical Publisher, Yogyakarta, 275.
- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Penerbit ITB, Bandung, 78.
- Hartady, T., Balia, R. L., Syamsunarno, M. R. A. A., Jasni, S., & Priosoeryanto, B. P. (2020). Bioactivity of *Amomum compactum* Soland ex Maton (*Java cardamom*) as a natural antibacterial. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(9), 384–387.
- Hayat, K., Abbas, S., Hussain, S., Shahzad, S. A., & Tahir, M. U. (2019). Effect of microwave and conventional oven heating on phenolic constituents, fatty acids, minerals and antioxidant potential of fennel seed. *Industrial Crops and Products*, 140, 111610. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111610>
- Hou, C., Zhang, Q., Xie, P., Lian, H., Wang, Y., Liang, D., Cai, Y., & He, B. (2023). Full-length transcriptome sequencing reveals the molecular mechanism of monoterpane and sesquiterpene biosynthesis in *Cinnamomum burmannii*. *Frontiers in Genetics*, 13, 1087495. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1087495>
- Karrar, E., Sheth, S., Wei, W., & Wang, X. (2020). Effect of microwave heating on lipid composition, oxidative stability, color value, chemical properties, and antioxidant activity of gurum (*Citrullus lanatus* var. *Colocynthoides*) seed oil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101504. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101504>

- Kriharyani, D., Wasito, E. B., Siswodihardjo, S., Yuniarti, W. M., & Kurniawan, E. (2020). In silico study on antibacterial activity and brazilein adme of sappan wood (*Caesalpinia sappan* L.) against *Escherichia coli* (strain K12). *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(10), 290–296.
- Kumar, S., Thambiraja, T. S., Karuppanan, K., & Subramaniam, G. (2022). Omicron and Delta variant of SARS-CoV-2: a comparative computational study of spike protein. *Journal of Medical Virology*, 94(4), 1641–1649. <https://doi.org/10.1002/jmv.27526>
- Lestari, W., Hasballah, K., Listiawan, M. Y., & Sofia, S. (2022). Identification of antioxidant components of Gayo Arabica coffee cascara using the GC-MS method. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 956, The 11th Annual International Conference on Environmental and Life Sciences (AIC-ELS 2021): 012011. Banda Aceh, Indonesia, 29–30 September 2021. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/17551315/956/1/012011>
- Lu, P. L., & Morden, C. W. (2014). Phylogenetic relationships among Dracaenoid genera (Asparagaceae: Nolinoideae) inferred from chloroplast DNA loci. *Systematic Botany*, 39(1), 90–104. <https://doi.org/10.1600/036364414X678035>
- Manglani, N., Soni, I., & John, P. J. (2023). Preparation and GC-MS analysis of sweet mustard oil. *International Journal of Applied Research*, 9(4), 93–98.
- Musa, J., & Njidda, A. A. (2021). Chemical composition, anti-nutritive substances, amino acid profile and mineral composition of *Moringa oleifera* seeds subjected to different boiling duration. *Nigerian Journal of Animal Science and Technology (NJAST)*, 4(1), 43–52.
- Nadeem, A., Fatima, I., Safdar, N., & Yasmin, A. (2022). Customized heating treatments variably affect the biological activities and chemical compositions of three indigenous culinary herbs. *Journal of Taibah University for Science*, 16(1), 120–129. <https://doi.org/10.1080/16583655.2022.2035069>
- Nagja, T., Vimal, K., & Sanjeev, A. (2016). Myristica fragrans: a comprehensive review. *International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 27–30.
- Nirmal, N. P., Rajput, M. S., Prasad, R. G., & Ahmad, M. (2015). Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(6), 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.05.014>
- Njobdi, S., Gambo, M., & Ishaku, G. A. (2018). Antibacterial activity of *Zingiber officinale* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 19 (1), 1–8. <https://doi.org/10.9734/JABB/2018/43534>
- Nur, R. M., & Nugroho, L. H. (2018). Cytotoxic activities of fractions from *Dioscorea bulbifera* L. chloroform and methanol extracts on T47D breast cancer cells. *Pharmacognosy Journal*, 10(1), 33–38. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.1.7>
- Nurainy, F., Rizal, S., Suharyono, S., & Susanti, E. (2022). Characteristic of red guava juice probiotic beverages with the addition of cinnamon and sappan wood extract. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 22(2), 195–204. <https://doi.org/10.25181/jppt.v22i2.2149>
- Ode, I., Wahjuningrum, D., Yuhana, M., & Setiawati, M. (2023). The antibacterial activity of clove *Syzygium aromaticum* extract and its effects on the survival rate of hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ infected with *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 22(1), 1–11. <https://doi.org/10.19027/jai.22.1.1-11>
- Palimbong, S., Mangalik, G., & Mikasari, A. L. (2020). Pengaruh lama perebusan terhadap daya hambat radikal bebas, viskositas dan sensori sirup secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 11(1), 7–15. <https://doi.org/10.35891/tp.v11i1.1786>
- Pammi, N., Bhukya, K. K., Lunavath, R. K., & Bhukya, B. (2021). Bioprospecting of Palmyra palm (*Borassus flabellifer*) nectar: unveiling the probiotic and therapeutic potential of the traditional rural drink. *Frontiers in Microbiology*, 12, 683996. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.683996>
- Parasthi, L. Y. E., Afifah, D. N., Nissa, C., & Panunggal, B. (2020). Total lactic acid bacteria and antibacterial activity in yoghurt with addition of *Ananas comosus* Merr. and *Cinnamomum burmannii*. *Amerta Nutrition*, 4(4), 257–264. <https://doi.org/10.20473/amnt.v4i4.2020.257-264>
- Parisa, N., Islami, R. N., Amalia, E., Mariana, M., & Rasyid, R. S. P. (2019). Antibacterial activity of cinnamon extract (*Cinnamomum burmannii*) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research*, 3(2), 19–28. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.683996>
- Paszczynk, B., Brandt, W., & Łuczyńska, J. (2016). Content of conjugated linoleic acid (CLA) and trans isomers of C18: 1 and C18: 2 acids in fresh and stored fermented milks produced with

- selected starter cultures. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(5), 391–396. <https://doi.org/10.17221/358/2015-CJFS>
- Qanash, H., Yahya, R., Bakri, M. M., Bazaid, A. S., Qanash, S., Shater, A. F., & TM, A. (2022). Anticancer, antioxidant, antiviral and antimicrobial activities of Kei Apple (*Dovyalis caffra*) fruit. *Scientific Reports*, 12(1), 5914. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09993-1>
- Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M. D. L. E., Canica, M., Tejedor-Junco, M. T., Igrejas, G., & Poeta, P. (2020). *Escherichia coli* as commensal and pathogenic bacteria among food-producing animals: Health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. *Animals*, 10(12), 2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>
- Romruen, O., Kaewprachu, P., Karbowiak, T., & Rawdkuen, S. (2022). Development of intelligent gelatin films incorporated with Sappan (*Caesalpinia sappan L.*) heartwood extract. *Polymers*, 14(12), 2487. <https://doi.org/10.3390/polym14122487>
- Salamatullah, A. M., Hayat, K., Arzoo, S., Alzahrani, A., Ahmed, M. A., Yehia, H. M., Alsulami, T., Al-Badr, N., Al-Zaiied, B. A. M., & Althbiti, M. M. (2021). Boiling technique-based food processing effects on the bioactive and antimicrobial properties of basil and rosemary. *Molecules*, 26(23), 7373. <https://doi.org/10.3390/molecules26237373>
- Savinova, O. S., Begunova, A. V., Ijabadeniyi, O. A., Moiseenko, K. V., & Fedorova, T. V. (2022). Functional properties and metabolic profile of National fermented products of Russia and South Africa. *KnE Life Sciences*, 271–284. <https://doi.org/10.18502/kls.v7i1.10129>
- Setyowati, N., Mulyo, J. H., & Yudhistira, B. (2023). The hidden treasure of wedang uwuh, an ethnic traditional drink from Java, Indonesia: Its benefits and innovations. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 31, 100688. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100688>
- Shaaban, M. T., Ghaly, M. F., & Fahmi, S. M. (2021). Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Basic Microbiology*, 61(6), 557–568. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100061>
- Sim, Y. Y., & Nyam, K. L. (2021). *Hibiscus cannabinus* L.(kenaf) studies: Nutritional composition, phytochemistry, pharmacology, and potential applications. *Food Chemistry*, 344, 128582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128582>
- Thileepan, T., Thevanesam, V., & Kathirgamanathan, S. (2017). Antimicrobial activity of seeds and leaves of *Myristica fragrans* against multi-resistant microorganisms. *Journal of Agricultural Sciences and Technology A*, 7(5), 302–308. <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2017.05.002>
- Tortorello, M. L., Batt, C. A. (2014). Encyclopedia of food microbiology. Academic Press Elsevier, San Diego CA, 735.
- Velavan, S. (2015). Phytochemical techniques-a review. *World Journal of Science and Research*, 1(2), 80–91.
- Widyaningsih, T. D., Siska, A. I., Fanani, R., & Martati, E. (2020). Traditional drink of black cincau (*Mesona palustris* BL)-based wedang uwuh as immunomodulator on alloxan-induced diabetic rats. *Nutrition & Food Science*, 50(6), 1123–1133. <https://doi.org/10.1108/NFS-05-20190165>
- Yu, T., Yao, H., Qi, S., & Wang, J. (2020). GC-MS analysis of volatiles in cinnamon essential oil extracted by different methods. *Grasas Y Aceites*, 71(3), e372–e372. <https://doi.org/10.3989/gya.0462191>