

Sifat pro-oksidan perasan jeruk lemon (*Citrus Limun L.*) untuk meningkatkan aktivitas antioksidan teh hitam

Prooxidant properties of lemon extract (Citrus Limun L.) to increase antioxidant activity of black tea

Frida Dwi Anggraeni ¹*, Suprihana ¹

¹ Fakultas Pertanian, Universitas Widyagama Malang

*Email korespondensi: fridadwi@widyagama.ac.id

Informasi artikel:

Dikirim: 10/01/2024; disetujui: 02/03/2024; diterbitkan: 30/03/2024

ABSTRACT

Black tea was a drink made through fermentation by the enzyme polyphenol oxidase which could enzymatically oxidize catechins in fresh leaves. Lemon juice was added to the tea to determine the effect of adding lemon juice to the tea. This research aimed to determine the effect of brewing temperature and the pro-oxidant properties of adding lemon juice on changes in polyphenols and antioxidant activity of black tea. This research used a factorial design with 2 treatment factors, namely black tea brewed at 80°C and 100°C with the addition of 0%, 1% and 2% lemon juice with 3 repetitions. Green tea was used as a control. Analysis was carried out on total phenol content and IC₅₀. Data analysis used the ANOVA test with a confidence level of 0.05. The research results showed that the total phenol of steeping black tea at a temperature of 80°C were lower than those steeping black tea at a temperature of 100°C, namely 20.41% and 27.08% respectively, but lower than the total phenol of green tea. Likewise, the higher level of added lemon juice, the higher total phenol content, but lower than total phenol content of green tea. For antioxidant activity was measured by IC₅₀ inhibition, it showed that IC₅₀ value at a black tea steeping temperature of 100°C was lower than IC₅₀ value at 80°C black tea steeping. Likewise, with the addition of lemon juice, IC₅₀ value decreased, namely 65.75 µg/ml to 35.84 µg/ml for steeping black tea at 80°C and 22.88 µg/ml to 15.94 µg/ml for steeping black tea at 100°C. The smaller IC₅₀ value, the higher antioxidant activity.

Keywords: *black tea, lemon, total phenol, IC₅₀*

ABSTRAK

Teh hitam merupakan minuman yang dibuat melalui fermentasi oleh enzim polifenol oksidase yang dapat mengoksidasi enzimatis katekin dalam daun segar. Sari jeruk lemon ditambahkan ke dalam seduhan teh untuk mengetahui pengaruh penambahan perasan jeruk lemon pada seduhan teh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyeduhan dan sifat prooksidan penambahan perasan jeruk lemon terhadap perubahan polifenol dan aktivitas antioksidan dari teh hitam. Penelitian ini menggunakan rancangan faktorial dengan 2 faktor perlakuan, yaitu teh hitam yang diseduh pada suhu 80°C dan 100°C dengan penambahan perasan jeruk lemon 0%, 1% dan 2% dengan 3 kali ulangan. Teh hijau digunakan sebagai kontrol. Analisis dilakukan terhadap kandungan total fenol dan IC₅₀. Analisis data menggunakan uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total fenol seduhan teh hitam pada suhu 80°C lebih rendah dibanding seduhan teh hitam pada suhu

100°C, yaitu berturut – turut 20,41% dan 27,08%, akan tetapi lebih rendah dari total fenol teh hijau. Begitu pula dengan semakin tinggi kadar penambahan perasan jeruk lemon, semakin tinggi pula kandungan total fenolnya, akan tetapi lebih rendah dari total fenol teh hijau. Untuk aktivitas antioksidan yang diukur dengan penghambatan IC₅₀, menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ pada suhu seduhan teh hitam 100°C lebih rendah dibandingkan nilai IC₅₀ pada seduhan teh hitam 80°C. Begitu pula dengan penambahan perasan jeruk lemon, nilai IC₅₀ menurun yaitu 65,75 µg/ml sampai 35,84 µg/ml untuk seduhan teh hitam 80°C dan 22,88 µg/ml sampai 15,94 µg/ml untuk seduhan teh hitam 100°C. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Kata kunci : teh hitam, jeruk lemon, total fenol, IC₅₀

PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di wilayah pegunungan di Asia. Awalnya teh banyak ditemukan di sekitar barat daya Cina sampai timur laut India, namun sekarang banyak ditemukan di daerah Asia lain seperti Indonesia. Teh banyak diminati dan hampir setiap hari dikonsumsi masyarakat sebagai minuman penyegar maupun minuman kesehatan, karena efek relaksasi yang ditimbulkan serta dipercaya memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh (Aryanti *et al.*, 2021). Secara umum, berdasarkan cara atau proses pengolahannya, teh diklasifikasikan menjadi empat jenis, yaitu teh putih, teh hijau, teh oolong dan teh hitam. Teh putih dan teh hijau dibuat dengan cara menginaktivasi enzim oksidase yang ada pada pucuk teh segar melalui pemanasan atau penguapan. Teh hitam dibuat dengan cara memanfaatkan terjadinya oksidasi enzimatis terhadap kandungan teh. Teh hitam ini melalui tahap fermentasi penuh. Sedangkan teh oolong dihasilkan melalui tahap fermentasi sedikit, sehingga disebut teh semi fermentasi. Keempat jenis teh tersebut memiliki karakteristik yang berbeda-beda (Anggraini *et al.*, 2018). Daun teh hijau, hitam dan putih mempunyai beberapa efek yang baik dalam kesehatan, salah satunya sebagai antioksidan. Komponen utama pada daun teh hijau, hitam dan putih adalah polyphenol, dimana senyawa utama yang berperan sebagai antioksidan adalah flavonoids (Leslie dan Gunawan, 2019).

Adri, Delvi dan Wikanastri (2013)

menyatakan bahwa teh adalah seduhan dari daun kering yang dapat dikonsumsi secara minimal dengan penyeduhan air mendidih sehingga zat warna dan kandungan yang ada pada daun kering dapat diserap khasiatnya, jadi minuman teh tidak hanya menggunakan daun teh saja tetapi dapat menggunakan daun lain (Adri *et al.*, 2013). Terdapat dua kategori proses pengolahan teh kering yaitu melalui fermentasi dan tanpa melalui fermentasi. Dari sifat organoleptik terdapat perbedaan antara teh tanpa fermentasi dengan teh fermentasi yaitu keadaan fisik teh tanpa fermentasi air seduhannya berwarna hijau sedangkan teh fermentasi berwarna kemerahan, aroma teh fermentasi lebih wangi bila dibandingkan dengan teh tanpa proses fermentasi, dan cita rasa teh fermentasi rasanya tidak sepat bila dibandingkan dengan teh tanpa fermentasi (Anggraeni, 2017).

Teh hitam (*Camellia sinensis* O. K var *assamica* (mst.)) merupakan salah satu minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Jenis teh ini dibuat melalui fermentasi oleh enzim polifenol oksidase yang dapat mengoksidasi enzimatis katekin dalam daun segar, sehingga memberi ciri khas teh hitam yaitu berwarna dan berasa tajam. Biasanya teh dikonsumsi dalam bentuk minuman dengan cara menyeduh pada suhu, waktu dan takaran saji tertentu. Suhu penyeduhan akan mempengaruhi karakteristik organoleptik, fisik dan kimia dari seduhan teh (Ni Made *et al.*, 2022). Aktivitas antioksidan teh hitam tergantung pada proses penyeduhan seperti suhu, waktu penyeduhan dan ukuran partikel daun teh (Chang *et al.*, 2020). Theaflavin

dan thearubigin merupakan hasil oksidasi katekin akibat proses oksimatis pada pengolahan teh hitam (Lelita, 2015).

Senyawa polifenol terbukti memiliki kontribusi signifikan pada sifat organoleptic dan peningkatan kesehatan pada makanan. Terdapat dua kelompok senyawa polifenol yang terdapat pada teh yaitu katekin dan flavonol. (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG) adalah komponen katekin utama dalam teh, katekin lainnya adalah (-)-epicatechin (EC), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin-3-O-gallate (ECG). Akan tetapi, proses fermentasi teh hitam mengubah katekin sederhana menjadi kompleks theaflavin atau thearubigin, yang menunjukkan warna coklat tua dan sifat astringen, tetapi juga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Sedangkan komponen utama flavonol dalam teh adalah kaempferol, quercetin and myricetin konjugasi yang secara normal terikat pada gula. Senyawa polifenol lain yang terdapat dalam teh adalah anthocyanidins, leucoanthocyanidin, and deposite. (Wang *et al.*, 2022).

Buah lemon merupakan tanaman yang memiliki manfaat sebagai antioksidan alami karena memiliki kandungan vitamin C, asam sitrat, minyak atsiri, bioflavonoid, polifenol, kumarin, flavonoid, dan minyak-minyak volatil pada kulitnya seperti limonen ($\pm 70\%$), α -terpinen, α -pinen, β -pinen, serta kumarin, dan polifenol (Krisnawan *et al.*, 2018).

Masyarakat sering mengonsumsi buah lemon impor yang dibeli di supermarket karena dipercaya memiliki kualitas yang lebih bagus. Buah lemon yang dipilih biasanya buah yang masih segar, memiliki permukaan kulit yang bagus, berwarna kuning dan yang memiliki ukuran yang besar. Beberapa penelitian mengatakan bahwa buah lemon memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meredam radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat menimbulkan berbagai penyakit kronis dan degeneratif seperti stroke, asma, diabetes

melitus, radang usus, penyumbatan pembuluh darah di jantung, parkinson, dan penuaan dini (Puspitasari *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian, penambahan vitamin C tidak memberikan efek pada kestabilan ECGC (epigallocatechin gallate), yang merupakan zat antioksidan dalam teh hijau, tetapi dapat menurunkan peningkatan IC_{50} dalam teh hijau (Rahman, 2020). Yang artinya dengan penambahan vitamin C dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada teh hijau. Pada penelitian lain, jenis pH larutan dapat mempengaruhi stabilitas ECGC. Berdasarkan beberapa penelitian kondisi pH yang baik untuk stabilisasi ECGC yaitu pH antara 2 – 5,5, $pH < 7$, pH sekitar 4 dan $pH < 3$. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa ECGC stabil pada kondisi asam $2 < pH < 5$. Namun pH pada penelitian ini tidak dikendalikan. Nilai pH pada penelitian ini dipengaruhi oleh banyaknya kadar vitamin C yang ditambahkan pada sampel (Rahman, 2020).

Dalam penyajian untuk minuman, teh terlebih dahulu diseduh dengan air panas. Hal ini dimaksudkan agar selama penyeduhan terjadi proses ekstraksi yaitu terlarutnya beberapa senyawa yang terkandung di dalamnya, salah satunya adalah senyawa polifenol. Seringkali orang menambahkan beberapa tetes sari jeruk ke dalam seduhan teh yang telah siap minum sehingga akan didapatkan warna seduhan yang semula kuning kecoklatan berubah menjadi lebih terang dan rasanya agak asam. Berdasarkan penelitian (Sudjatini, 2019), penambahan sari jeruk nipis ke dalam seduhan teh hijau minimal 0,2 % dapat meningkatkan aktivitas antioksidan seduhan teh hijau.

Namun sampai saat ini belum pernah diteliti pengaruh penambahan perasan jeruk lemon pada seduhan teh terhadap perubahan polifenol dan aktivitas antioksidannya. Dalam penelitian ini, akan dikaji seberapa besar perubahan kandungan polifenol dan aktivitas antioksidan dari teh hitam dengan adanya penambahan sari jeruk lemon dan pengaruh suhu penyeduhan, sehingga dapat diketahui pula manfaatnya dan khasiat teh

hitam bagi kesehatan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyeduhan dan sifat prooksidan penambahan perasan jeruk lemon terhadap perubahan polifenol dan aktivitas antioksidan dari teh hitam, sehingga dapat diketahui kondisi optimum penyeduhan teh hitam dengan penambahan perasan jeruk lemon.

METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah teh hitam yang diperoleh dari PT.Pagilaran Yogyakarta, dan jeruk lemon diperoleh di pasar Blimbing, Kota Malang. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol, reagen folin ciocalteu, Na_2CO_3 , asam galat, dan DPPH (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Sebagai pembanding menggunakan teh hijau yang diperoleh dari PT Pagilaran Yogyakarta.

Alat

Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, panci, kompor gas, baskom, mangkok, pengaduk, sendok plastik, Erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, pipet ukur, propipet, stirrer, dan spektrofotometer UV.

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor yang disusun secara faktorial. Faktor pertama suhu seduhan teh hitam (80°C dan 100°C) serta faktor kedua, penambahan perasan jeruk lemon (tanpa penambahan, 1%, dan 2%).

Pelaksanaan penelitian

a. Proses penyeduhan

Ekstraksi sampel dilakukan dengan membuat seduhan teh dengan prosedur sesuai dengan SNI 01-1902-1995 (Purwanti, 2019). Sebanyak 5 gram teh hitam diseduh dengan air aquades (250 ml) dengan perlakuan suhu 80°C , dan 100°C , ditutup dan didiamkan selama 10 menit. Hasil

seduhan dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian dilakukan variasi perlakuan yaitu tanpa penambahan, penambahan perasan jeruk lemon dengan kadar 1%, dan 2%. Seduhan teh kemudian dianalisis kandungan polifenol, dan aktivitas antioksidan. Teh hijau yang digunakan sebagai pembanding, tanpa ada penambahan perasan jeruk lemon.

b. Penentuan kadar total fenol

Pengukuran kandungan total fenol pada ekstrak dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu mengikuti prosedur (Hapsari *et al.*, 2018), dengan larutan standar yang digunakan adalah asam galat. Pengenceran dilakukan sebanyak 5x. Larutan tersebut diambil 1,0 ml dengan menggunakan pipet volume dan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Kedalam labu ukur 10,0 ml tersebut ditambahkan 500 μl pereaksi Folin-Ciocalteu, lalu dikocok hingga homogen selama 1 menit. Sebelum menit kedelapan, ditambahkan 4,0 ml Na_2CO_3 7,5% b/v, dikocok selama 1 menit dan ditambahkan aquades dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum sebesar 794 nm dan waktu optimum untuk pengukuran asam galat. Hasil pengukuran ini dinyatakan sebagai berat setara dengan asam galat tiap berat sampel (Sudaryat *et al.*, 2016).

c. Pengujian aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dimana aktivitas antioksidan dapat dilihat dari besarnya nilai IC₅₀ (half maximal inhibitory concentration). Sebanyak 1 ml seduhan teh dengan konsentrasi 10-100 mg/ml ditambahkan kedalam 2 ml DPPH 0,1 mM. Campuran selanjutnya dikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit ditempat gelap. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada maks 516 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk larutan blanko (larutan

DPPH yang tidak mengandung bahan uji). Larutan blanko terdiri dari 2 ml DPPH 0,1 mM dan 1 ml methanol p.a. (Sudaryat *et al.*, 2016). Persentase inhibisi IC50 terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\%inhibisi = \frac{(absorbansi\ blanko - absorbansi\ sampel)}{absorbansi\ blanko} \times 100\%$$

Analisis data

Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linier $y = bx + a$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar, kemudian dihitung kadar total fenolik. Kandungan total fenol dalam ekstrak seduhan teh hitam dihitung dengan memasukkan data absorbansi dalam persamaan kurva baku asam galat sebagai nilai y , di mana nilai x yang diperoleh merupakan ekivalensi miligram asam galat dalam tiap gram ekstrak (GAE). Kemudian

data hasil penelitian diuji dengan analisis ragam (ANOVA), kemudian apabila berbeda nyata dilanjutkan uji t atau Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total fenol

Kandungan fenolik total pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau Gallic Acid Equivalent (GAE). GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Lelita, 2015).

Berdasarkan uji ragam (Anova), suhu seduhan teh dan konsentrasi penambahan perasan jeruk lemon berpengaruh sangat nyata terhadap total fenol. Begitu pula dengan interaksi keduanya juga berpengaruh sangat nyata. Hubungan antara suhu seduhan teh dan konsentrasi perasan jeruk lemon terhadap total fenol dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Total fenol pada seduhan teh hitam dengan penambahan perasan jeruk lemon

Perlakuan	Total Fenol
Teh hitam 80oC tanpa penambahan lemon	20,41 ± 0,69a
Teh hitam 80oC penambahan lemon 1%	22,63 ± 0,22b
Teh hitam 80oC penambahan lemon 2%	25,61 ± 0,15c
Teh hitam 100oC tanpa penambahan lemon	27,08 ± 0,13d
Teh hitam 100oC penambahan lemon 1%	27,40 ± 0,13d
Teh hitam 100oC penambahan lemon 2%	28,68 ± 0,20e

Keterangan: Angka *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($\alpha = 5\%$)

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa seduhan teh hitam pada suhu 80°C didapatkan kadar polifenol yang lebih rendah dibanding seduhan teh hitam pada suhu 100°C. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada suhu penyeduhan teh hitam yang semakin tinggi, komponen polifenol lebih banyak yang terekstrak. Begitu pula dengan penambahan perasan jeruk lemon pada teh hitam yaitu 0%, 1%, dan 2%, menunjukkan kandungan total fenol yang meningkat baik pada suhu seduhan teh hitam 80°C maupun 100°C.

Menurut (Sudjatini, 2019), buah jeruk banyak mengandung asam-asam organik, yang terdiri dari asam sitrat dan asam askorbat. Kedua jenis asam tersebut mempunyai sifat sebagai antioksidan. Penambahan perasan jeruk lemon akan menurunkan pH. Stabilitas polifenol pada teh hitam dipengaruhi oleh pH dimana relatif stabil pada pH 3 dan 4, namun dapat mengalami degradasi pada pH 5 dan 6. Polifenol juga bersifat tidak stabil pada larutan netral dan basa. Semakin tinggi pH maka semakin besar persentase polifenol

yang terdegradasi (Zeng *et al.*, 2017). pH teh hitam umumnya sebesar 5,3 sehingga polifenol pada teh hitam kurang stabil warnanya dan dapat mengakibatkan kontribusinya sebagai antioksidan kurang optimal (Gunawan & Silvia Loren Br Sinaga, 2022).

Sedangkan apabila dibandingkan dengan kontrol yaitu teh hijau yang diseduh pada suhu 80°C dan 100°C, total fenol masing – masing seduhan adalah 27,91 dan 28,94. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan total fenol pada teh hijau baik penyeduhan 80°C maupun 100°C masih lebih tinggi dibandingkan teh hitam yang ditambah perasan jeruk lemon 2%. Teh hijau memiliki kandungan total fenolik tertinggi karena pada teh hijau tidak mengalami proses fermentasi (oksidasi enzimatis), yaitu dibuat dengan cara menginaktifkan enzim fenolase yang ada dalam pucuk daun teh segar. Semakin banyak proses fermentasi yang dijalani, kandungan total fenolik di dalam teh akan berkurang (Lelita, 2015).

Pada penelitian lain, Salman *et al.* (Salman *et al.*, 2022), semakin lama fermentasi pada teh hitam menghasilkan theaflavin yang semakin tinggi, sedangkan katekin dan kandungan total fenolik menurun. Standar katekin menurun secara berkala dengan semakin lama fermentasi dan epigallocatechin gallat menurun 87 % dari teh hijau kemudian teh oolong, dan teh hitam.

Aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan seduhan teh hitam dengan berbagai suhu seduhan dan penambahan perasan jeruk lemon dilakukan dengan menggunakan DPPH (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sebagai radikal bebas. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 518 nm, berdasarkan pada kemampuan antioksidan polifenol dalam seduhan teh hitam dalam mendonorkan atom hidrogennya ke radikal bebas DPPH dengan atau tanpa penambahan perasan jeruk lemon yang banyak mengandung asam sitrat dan asam askorbat yang juga berfungsi sebagai antioksidan.

Metode ini menggunakan IC₅₀ sebagai parameter untuk menentukan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Kemudian untuk menentukan nilai IC₅₀ dibuat kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persen inhibisi yang akan menghasilkan persamaan regresi linier (Purwanti, 2019).

Berdasarkan uji ragam (Anova), suhu seduhan teh dan konsentrasi penambahan perasan jeruk lemon berpengaruh sangat nyata terhadap total fenol. Begitu pula dengan interaksi keduanya juga berpengaruh sangat nyata. Hubungan antara suhu seduhan teh dan konsentrasi perasan jeruk lemon terhadap nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ pada seduhan teh hitam dengan penambahan perasan jeruk lemon

Perlakuan	IC ₅₀ (µg/ml)
Teh hitam 80°C tanpa penambahan lemon	65,75 ± 0,52 ^d
Teh hitam 80°C penambahan lemon 1%	63,63 ± 1,83 ^d
Teh hitam 80°C penambahan lemon 2%	35,84 ± 0,66 ^c
Teh hitam 100°C tanpa penambahan lemon	22,88 ± 3,44 ^b
Teh hitam 100°C penambahan lemon 1%	27,10 ± 2,33 ^b
Teh hitam 100°C penambahan lemon 2%	15,94 ± 0,87 ^a

Keterangan: Angka *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($\alpha = 5\%$)

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 2, menunjukkan bahwa seduhan teh hitam 100°C dengan penambahan lemon 2%

memiliki aktivitas antioksidan terbaik yang ditandai dengan rendahnya nilai IC₅₀ yaitu 15,97 g/ml. sedangkan nilai IC₅₀ tertinggi

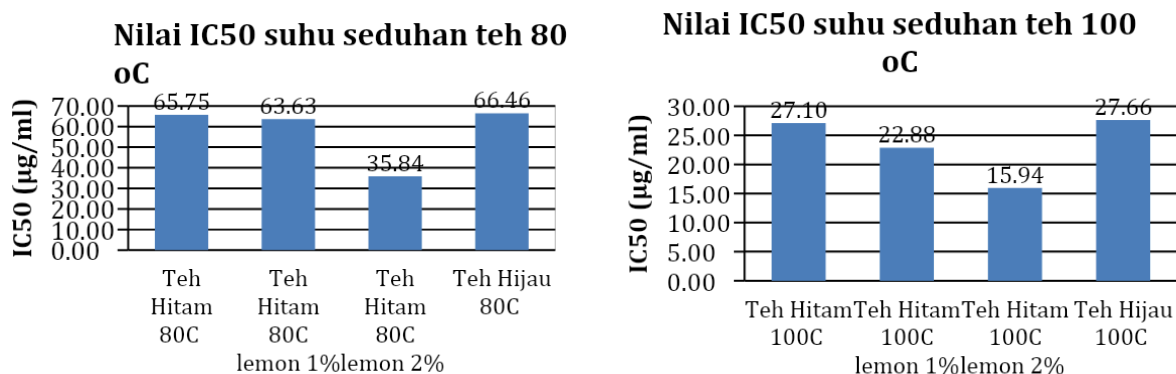
pada teh hitam dengan penyeduhan 80°C tanpa penambahan lemon yaitu sebesar 65,75 µg/ml, akan tetapi masih termasuk memiliki aktivitas antioksidan kuat karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 100µg/ml (Sudaryat *et al.*, 2016).

Berdasarkan penelitian Widowati *et al.* (Widowati *et al.*, 2022), nilai IC₅₀ untuk pada penghambatan aktivitas DPPH pada ekstrak teh hitam adalah 15,29 µg/ml yang artinya dengan kandungan antioksidan ekstrak teh hitam sebesar 15.29 µg/ml dapat menghambat 50% aktivitas DPPH yang memiliki sifat radikal bebas, sehingga dapat dikategorikan ekstrak teh hitam termasuk memiliki sifat antioksidan aktif yang tinggi. Ekstrak teh hitam memiliki antioksidan aktif dikarenakan memiliki metabolit sekunder tinggi yang dinamakan epigallocatechin gallate (EGCG) > epigallocatechin (EGC) > epicatechin (EC) = catechin. EGCG adalah polifenol yang paling efektif untuk melawan radikal bebas.

Sama halnya dengan teh hijau, teh hitam tidak menunjukkan penurunan aktivitas antioksidan dengan kenaikan suhu. Pada suhu seduhan teh 80°C menunjukkan

aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding suhu seduhan 55°C (Bodor *et al.*, 2021). Pada penelitian ini juga disebutkan, nilai tertinggi aktivitas antioksidan diperoleh pada teh yang ditambahkan lemon saja pada suhu 80°C. Adanya kandungan asam askorbat pada lemon berkontribusi dalam meningkatkan kapasitas antioksidan dan kandungan polifenol pada teh. Akan tetapi, pada perlakuan lain, teh yang ditambahkan kombinasi lemon dan madu pada suhu seduhan 80°C menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Hal ini kemungkinan dikarenakan dua efek yang perlu dipertimbangkan, di satu sisi terjadi pembentukan melanoidin dalam proses Maillard yang menunjukkan nilai aktivitas antioksidan yang tinggi. Di sisi lain, kerusakan akibat panas dan reaksi antara asam askorbat dan polifenol secara bersamaan dengan reaksi Maillard menyebabkan hasil sebaliknya.

Sedangkan hubungan antara teh hitam dengan variasi penambahan perasan jeruk lemon apabila dibandingkan dengan kontrol yaitu teh hijau pada masing – masing suhu seduhan terhadap nilai IC₅₀ ditunjukkan pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Hubungan antara teh hitam dengan penambahan perasan jeruk lemon dan teh hijau terhadap nilai IC₅₀

Berdasarkan Gambar 1, pengujian nilai IC₅₀ pada teh hitam tanpa penambahan lemon seduhan suhu 80°C sebesar 65,75 µg/ml sedangkan seduhan suhu 100°C sebesar 27,10 µg/ml. Sedangkan pada kontrol teh hijau tanpa penambahan lemon seduhan 80°C menunjukkan nilai IC₅₀

sebesar 66,46 µg/ml, sedangkan pada seduhan 100°C menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 27,66 µg/ml. Nilai IC₅₀ pada teh hitam dan kontrol teh hijau tanpa penambahan lemon tidak berbeda nyata secara signifikan. Pada teh hijau tanpa fermentasi komponen utama adalah katekin,

sedangkan pada teh hitam adalah theaflavin dan thearubigin. Katekin merupakan antioksidan alami paling potensial dikarenakan sifat pengikat radikal (*radical scavenging properties*). Aktivitas antioksidan katekin berbeda pada tiap jenis teh. Ada penelitian yang menunjukkan aktivitas antioksidan katekin pada teh adalah $ECG \geq EGCG > EGC > GA > EC \cong C$, sedangkan pada penelitian lain $EGCG > EGC > ECG > EC$. Dalam beberapa penelitian kandungan antioksidan efektif dalam katekin kemungkinan berbeda. (Salman *et al.*, 2022).

Sedangkan pada peningkatan suhu seduhan menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi dengan peningkatan suhu seduhan teh. Hal ini terkait dengan meningkatnya kandungan senyawa polifenol dan tanin teh yang terekstrak di dalam seduhan teh (Sudjatini, 2019).

Kemampuan pengikatan DPPH yang lebih tinggi ditunjukkan pada suhu penyeduhan, yang dibuktikan bahwa aktivitas pengikatan radikal DPPH pada teh hitam yang dipersiapkan dengan air yang direbus 100°C lebih baik daripada yang lain pada konsentrasi the yang sama. Nilai IC_{50} adalah 100.0 ± 13.7 , 63.0 ± 4.2 , 46.2 ± 5.5 , 35.3 ± 5.2 , and $28.4 \pm 4.8 \mu\text{g/mL}$ untuk suhu perebusan air dari 60°C sampai 100°C. teh hitam dengan DPPH IC_{50} rendah memiliki total fenol yang lebih tinggi, dan kemampuan IC_{50} dalam mengikat DPPH menunjukkan korelasi negatif dengan nilai kandungan total fenol. Pada suhu tinggi, terjadi degradasi kimia dimana terjadi perubahan struktur molekul yang sensitif terhadap suhu seperti (-)-epigallocatechin-3-gallate (Chang *et al.*, 2020).

Di dalam perasan jeruk lemon juga terdapat polifenol meskipun kadarnya rendah, namun kandungan asamnya tinggi. Kandungan vitamin C dan asam sitrat pada jeruk lemon cukup tinggi dan merupakan antioksidan yang baik. Sehingga, dengan penambahan jeruk lemon 2% pada teh hitam menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hijau

tanpa penambahan lemon yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah. Hal ini berkaitan dengan kandungan asam sitrat dan asam askorbat yang ditunjukkan dalam total asam yang tinggi pada perasan jeruk lemon tersebut. Asam sitrat dan asam askorbat termasuk pada jenis antioksidan larut air (Gunawan & Silvia Loren Br Sinaga, 2022).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan suhu penyeduhan teh hitam akan meningkatkan kandungan total polifenol dan tanin dalam seduhan teh. Peningkatan kandungan polifenol tersebut akan mengakibatkan meningkatnya aktivitas antioksidan dalam seduhan teh hitam. Penambahan perasan jeruk lemon ke dalam seduhan teh hitam minimal 2 % dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan lebih rendahnya nilai IC_{50} dibandingkan dengan kontrol teh hijau pada suhu seduhan 100°C. Kondisi optimum penyeduhan teh hitam yaitu pada suhu 100°C dengan ditambahkan perasan jeruk lemon 2% yaitu diperoleh kandungan total polifenol 28,68% dan nilai IC_{50} sebesar 15,94 g/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Widyagama Malang yang telah mendanai penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Adri, D., Hersoelistyorini, W., & Suyanto, A. (2013). Aktivitas antioksidan dan sifat organoleptik teh daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) berdasarkan variasi lama pengeringan. *Jurnal Pangan Dan Gizi*, 4(1). <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JPDG/article/view/1058>

- Anggraeni, T. (2017). *Proses dan manfaat teh*. Padang : Erka
- Anggraini, L. D., Rohadi, R., & Putri, A. S. (2018). Komparasi sifat antioksidatif seduhan teh hijau, teh hitam, teh oolong dan teh putih produksi PT perkebunan nusantara IX. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, 13(2), 10–21.
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah metode pengujian aktivitas antioksidan pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) kuntze): Study of antioxidant activity testing methods of green tea (*Camellia sinensis* (L.) kuntze). *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 7(1), 15–24.
- Bodor, Z., Pergel, B., & Benedek, C. (2021). Impact of heat treatment and flavorings on the antioxidant capacity of black and green tea. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 16(S2), 55–63.
- Chang, M.-Y., Lin, Y.-Y., Chang, Y.-C., Huang, W.-Y., Lin, W.-S., Chen, C.-Y., Huang, S.-L., & Lin, Y.-S. (2020). Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. *Applied Sciences*, 10(8), 2685.
- Gunawan, W., & Silvia Loren Br Sinaga, W. (2022). The effect of the additional lime and eucalyptus globulus essential oil toward antioxidants activity and organoleptics of black tea steeping. *FAST - Jurnal Sains dan Teknologi (Journal of Science and Technology)*, 6(1), 43. DOI : 10.19166/jstfast.v6i1.5263
- Hapsari, A. M., Masfria, M., & Dalimunthe, A. (2018). Pengujian kandungan total fenol ekstrak etanol tempuyung (*Shoncus arvensis* L.). *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(1), 284–290. <https://talentaconfseries.usu.ac.id/tm/article/view/75>
- Krisnawan, A. H., Budiono, R., Sari, D. R., & Salim, W. (2018). Potensi antioksidan ekstrak kulit dan perasan daging buah lemon (*Citrus lemon*) lokal dan impor. In *Prosiding SEMNASTAN*, 30–34.
- Lelita, I. Dea. S. A. P. (2015). Sifat antioksidan ekstrak teh (*Camellia sinensis* linn.) Jenis teh hijau, teh hitam, teh oolong dan teh putih dengan lama pengeringan beku (freeze drying). *Jurnal Hasil Pertanian*, 1(1), 15–30.
- Leslie, P. J., & Gunawan, S. (2019). Uji fitokimia dan perbandingan efek antioksidan pada daun teh hijau, teh hitam, dan teh putih (*Camellia sinensis*) dengan metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Tarumanagara Medical Journal*, 1(2), 383–388.
- Ni Made, R. F., Wrasiasi, L. P., & Lani Triani, I. G. A. (2022). Karakteristik teh hitam la vie en rose produksi PT bali cahaya amerta pada perlakuan suhu penyeduhan dan takaran saji. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 10(3), 332–341.
- Purwanti, L. (2019). Perbandingan aktivitas antioksidan dari seduhan 3 merk teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) kuntze) dengan metode seduhan berdasarkan SNI 01-1902-1995. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 2(1), 19–25. <https://doi.org/10.29313/jiff.v2i1.4207>
- Puspitasari, A. D., Susanti, E., & Khustiana, A. (2019). Aktivitas antioksidan dan penetapan kadar vitamin C perasan daging buah lemon (*Citrus limon* (L.) osbeck) menggunakan metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(2), 99–104.
- Rahman, A. P. (2020). *Pengaruh penambahan vitamin C terhadap kadar (-)-epigallocatechin gallate (egcg) dan aktivitas antioksidan pada seduhan teh hijau* [Thesis], Surabaya : Universitas Airlangga. <https://repository.unair.ac.id/97424/>
- Salman, S., Öz, G., Felek, R., Haznedar, A., Turna, T., & Özdemir, F. (2022). Effects of fermentation time on phenolic composition, antioxidant and

- antimicrobial activities of green, oolong, and black teas. *Food Bioscience*, *49*, 101884.
- Sudaryat, Y., Kusmiyati, M., Pelangi, C. R., Rustamsyah, A., & Rohdiana, D. (2016). Antioxidant activity of ten grades of Indonesia black tea (*Camellia sinensis* (L.) O. kuntze) liquor. *Jurnal Sains Teh dan Kina*, *18*(2).
<https://doi.org/10.22302/pptk.jur.jptk.v18i2.70>
- Sudjatini, S. (2019). Sifat pro-oksidan sari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap aktivitas antioksidan teh hijau (*Camellia sinensis*). *Agrotech : Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian*, *1*(1), 19–26.
<https://doi.org/10.37631/agrotech.v1i1.4>
- Wang, S., Gan, Z., Wang, B., Zhang, N., LI, K., & Yao, T. (2022). Effect of brewing conditions on polyphenols in the dark tea (*Camellia sinensis* L.) infusions: Content, composition and antioxidant activities. *Food Science and Technology*, *42*, e36322.
- Widowati, W., Tjokropranoto, R., Damayanti, C., Kusuma, H. S. W., Handayani, T., & Rizal, R. (2022). Potential of black tea (*Camellia sinensis* (L.) O. kuntze) extract as an antioxidant and skin anti-aging. In *Proceedings of the 1st International Conference on Emerging Issues in Technology, Engineering and Science - Volume 1: ICE-TES*. Bandung: SciTePress
- Zeng, L., Ma, M., Li, C., & Luo, L. (2017). Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *International Journal of Food Properties*, *20*(1), 1–18.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605>