

Analisis kandungan teaflavin dan tearubigin pada teh hitam yang diolah melalui metode pelayuan kimia bertahap

Analysis of Theaflavin and Thearubigin contents on black tea produced by two stages chemical wither

**Shabri, Dadan Rohdiana, Hilman Maulana, Sugeng Hariyanto,
Muhammad Iqbal Prawira Atmaja**

*Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung
Desa Mekarsari Kecamatan Pasirjambu Kabupaten Bandung 40972*

Email: anas.shabri16@gmail.com

Diajukan: 6 Maret 2019; direvisi: 18 Maret 2019; diterima: 6 Mei 2019

Abstrak

Fluktuasi jumlah pucuk teh dari kebun ke pabrik sering menjadi masalah yang sulit diatasi. Ketika jumlah pucuk teh melimpah melebihi kapasitas terpasang, pelayuan pucuk teh menjadi demikian sulit dikendalikan. Permasalahan ini dapat berakibat menurunnya kualitas teh hitamnya. *Theaflavin* (TF) dan *Thearubigin* (TR) merupakan senyawa kimia yang berkorelasi positif terhadap kualitas teh hitam. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi kualitas TF dan TR pada teh hitam ortodoks yang diolah menggunakan pelayuan kimia bertahap. Pada pelayuan tahap pertama, dua perlakuan yaitu A (musim plus) dan B (musim minus), dimana 25 kg pucuk teh dilayukan hingga masing-masing mencapai kadar air 60%, 65%; dan 70%. Selanjutnya kedua hasil pelayuan tahap pertama, masing-masing dicampur untuk dilakukan pelayuan tahap kedua hingga diperoleh kadar air mencapai kisaran 54-56%. Oksidasi enzimatis (fermentasi) berlangsung selama 90 menit. Perlakuan C (kontrol) adalah pengolahan rutin menggunakan program pengolahan ortodoks rotorvane dengan rangkaian dimana pucuk teh segar sebanyak 25 kg dilayukan dalam Withering Trough (WT) ukuran 1 m². Udara kering suhu 25-30 °C dihembuskan selama 16

jam hingga diperoleh pucuk teh layu dengan kadar air antara 54-56%. Proses selanjutnya mengikuti penggilingan teh hitam ortodoks rotorvane dengan waktu fermentasi 110 menit dan pengeringan rak blower. Perlakuan A, B, C diulang tiga kali. Perlakuan A pada musim plus menghasilkan rata-rata TF 1,10% bk dan TR 14,66% bk (rasio 1/13,41). Perlakuan B musim minus menghasilkan rata-rata TF 0,97% bk dan TR 15,39 bk (rasio 1/15,97). Perlakuan C (kontrol) menghasilkan rata-rata TF 0,92% bk dan TR 13,69 % bk (rasio 1/14,82). Pelayuan kimia dua tahap ini mampu mempertahankan kualitas terutama secara kimia dan juga organoleptik.

Kata kunci: pelayuan dua tahap, teh hitam, *Theaflavin*, *Thearubigin*

Abstract

The instability of tea shoots supply from the plantation to the factory was often a problem. In the flush season where tea shoots are abundant, an overcapacity often leads to the uncontrollable withering process. This problem was the cause of the decreased quality of black tea. Theaflavin (TF) and Thearubigin (TR) were chemical substances that positively correlated to the black tea quality. This research conducted to characterize TF and TR

quality in two-stages chemical withering. This research treatment consists of two treatments, namely treatment A (plus season), treatment B (minus season), and one control/routine production (treatment C). Treatment A and B used 25 kg of fresh tea shoots to be withered, the first stage was to wither the leaves until it reached 60%, 65%, and 70% of water content. The second stage was to blended those leaves at the first stage and withered it until it reached about 54-56%. For treatment A and B, the enzymatic oxidation (fermentation) time used 90 minutes. Treatment C used 25 kg of fresh tea shot that processed as normal routine production of black tea orthodox-rotor vane process, with enzymatic oxidation time 110 minutes. Every treatment was repeated 3 times. Treatment A produced TF of 0,97% d.b and TR of 15,39 d.b. (ratio 1:15,97). And treatment C produced TF of 0,92% d.b and TR of 13,69% d.b. (ratio 1:14,82). It was concluded that two-stage chemical withering was able to maintain the chemical and organoleptic qualities of black tea.

Keywords: two-stage chemical withering, black tea, Theaflavin, Thearubigin

PENDAHULUAN

Pelayuan merupakan langkah pertama dalam pengolahan teh hitam. Proses biokimia dan fisiologi pada jaringan masih terjadi setelah daun dipetik. Selama pelayuan terjadi dua perubahan utama dalam daun teh yaitu perubahan fisik dan kimia (Fard *et al.*, 2015). Perubahan fisik selama proses pelayuan ditandai dengan lemasnya daun yang disebabkan oleh menurunnya kandungan air. Peristiwa ini menyebabkan daun teh mudah digiling. Perubahan fisik ini menyebabkan perubahan kimia menjadi lebih baik. Penurunan kandungan air pada daun akan memekatkan senyawa-senyawa kimianya. Selama proses pelayuan terjadi kenaikan aktivitas enzim, terurainya protein menjadi asam amino bebas seperti alanin, leusin, isoleusin, dan valin serta perubahan zat

hijau daun klorofil menjadi *feoforbid* (Jabeen *et al.*, 2015; Patil *et al.*, 2002; Sarma, 2000).

Disamping masalah tingginya harga bahan bakar, fluktuasi jumlah pucuk teh segar dari kebun sering kali menjadi masalah yang sulit diatasi. Ketika jumlah pucuk melebihi kapasitas terpasang (musim plus), pelayuan yang merupakan proses pertama dalam pengolahan teh hitam menjadi demikian sulit dikendalikan. Pucuk kurang layu, brownish dan cacat mutu lainnya sering dijumpai ketika jumlah pucuk melimpah. Permasalahan ini dapat berakibat menurunnya kualitas teh hitamnya. *Theaflavin* (TF) dan *Thearubigin* (TR) merupakan senyawa kimia yang berkorelasi positif terhadap kualitas teh hitam (Owuor dan Obanda, 1998); Jose, 1999; Owuor dan Kwach, 2012). Jika jumlah pucuk teh terlalu sedikit (musim minus) hingga di bawah kapasitas terpasang, maka pucuk teh segar diolah bersamaan dengan pucuk teh hari berikutnya atau dengan kata lain pucuk teh digiling dua hari sekali (Owuor dan Orchard, 1992).

Pucuk yang tiba di pabrik dari kebun masih mempunyai kandungan air sekitar 78-80%. Metode standar untuk menurunkan kandungan air yang cocok untuk proses pengolahan teh hitam adalah dengan menggunakan pelayuan alami atau dengan penghembusan udara pada temperatur dan waktu tertentu. Selama proses pelayuan terjadi reaksi dalam daun yang disebut sebagai pelayuan kimia. Secara normal, baik pelayuan fisik maupun pelayuan kimia berlangsung dalam waktu yang bersamaan (Tomlins *et al.*, 1997; Zhao dan Slaga, 2004; Baruah *et al.*, 2012;). Selama musim hujan, pengolahan teh hitam terutama

selama pelayuan dibatasi oleh kelembaban udara, melimpahnya jumlah pucuk dan kondisi pucuk yang basah. Hal ini menyebabkan *withering trough* (WT) yang ada tidak mampu menampung jumlah pucuk yang banyak (Jose, 1999; Das, 2006; Singh *et al.*, 2012).

Dalam proses pengolahan teh hitam, pucuk dan daun muda dilayukan secara normal selama 12-24 jam untuk mereduksi kandungan air baik dalam permukaan daun maupun dalam sel daun. Selama proses pelayuan berlangsung terjadi perubahan-perubahan baik secara fisik maupun secara kimia dan biokimia. Proses pelayuan ini juga berfungsi memudahkan proses penggulangan dan penggilingan. Pada proses penggilingan, integritas jaringan daun rusak sehingga cairan sel yang kaya akan polifenol akan bereaksi dengan enzim polifenol oksidase membentuk pigmen TF dan TR dengan bantuan oksigen (Liang *et al.*, 2003; Bhuyan *et al.*, 2015; Pou, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi TF dan TR pada teh hitam ortodoks-rotorvane yang diolah menggunakan pelayuan kimia bertahap dengan kualitas organoleptik yang tetap baik.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Peralatan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Teh dan Laboratorium Pengujian Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung. Bahan percobaan yang digunakan adalah pucuk teh klon GMB 7 dari Kebun Gambung blok yang sama dengan standar petikan medium p + 3. Bahan pengujian diantaranya *iso butil*

metil keton (IBMK), chloroform, natrium karbonat, methanol, dan akuades.

Peralatan utama yang digunakan adalah *withering trough* (WT), *tea roller* (RL), *rotorvane* (RV), pengering rak, baki dan rak fermentasi, timbangan teknis. Peralatan pengujian meliputi Spektrofotometer UV - Vis merk Cary 50 Varian, perlengkapan cangkir tasting, *brabender moisture taster*, peralatan gelas laboratorium.

Diskripsi Perlakuan

Pengolahan teh menggunakan metode/program pengolahan ortodoks-rotorvane dengan menggunakan derajat layu pucuk sedang 44-46% atau setara dengan kadar air pucuk layu 54-56% (Anonim, 2008).

Perlakuan A: Dua kelompok pucuk teh segar dari musim flush/plus masing-masing 25 kg dimasukkan ke dalam WT ukuran 1 m² yang berbeda. Masing-masing WT segera diberi udara kering pada dua jam pertama untuk menurunkan suhu dan mencegah terbentuknya warna merah pada daun. Udara kering pada suhu 30°C dilewatkan pada WT untuk menguapkan air sampai mencapai kadar air tertentu yaitu 60%, 65%; dan 70% (Pelayuan Tahap I). Pucuk teh yang telah mencapai kadar yang ditentukan selanjutnya dicampurkan dalam satu WT. Selanjutnya campuran pucuk di atas dilayukan sampai dengan kadar air mencapai kisaran 54-56% (Pelayuan Tahap II). Total waktu pelayuan bertahap 18 jam sejak pucuk teh segar tiba di Laboratorium Pengolahan.

Perlakuan B: Pucuk teh segar dari musim minus sebanyak 25 kg dimasukkan ke dalam WT ukuran 1 m² (kelompok satu).

Udara segar dilewatkan pada WT untuk menguapkan air sampai mencapai kadar air tertentu yakni 60%, 65% dan 70%. Pucuk teh yang telah mencapai kadar yang ditentukan, didiamkan dalam WT tanpa dialiri udara untuk diamati perubahan fisik secara periodik selama 24 jam sampai pucuk teh hari berikutnya datang (Pelayuan Tahap I). Pucuk teh segar yang baru dipetik dari kebun sebanyak 25 kg (kelompok dua) dilayukan sampai mencapai kadar air yang sama dengan kelompok satu (Pelayuan Tahap I). Dua kelompok pucuk teh selanjutnya dicampurkan dalam satu WT. Selanjutnya campuran pucuk di atas dilayukan sampai dengan kadar air mencapai 54-56% (Pelayuan Tahap II). Total waktu pelayuan bertahap 42 jam sejak pucuk teh segar tiba di Laboratorium Pengolahan.

Pucuk teh yang telah layu dari Perlakuan A dan Perlakuan B, selanjutnya digiling menggunakan mini *roller* (RL) kapasitas silinder $\pm 12,5$ kg pucuk layu dan *rotorvane* (RV) 6 inchi selama 60 menit menghasilkan bubuk teh dengan rata lolos mesh 5. Lalu bubuk teh tersebut difermentasi (oksidasi enzimatis) di atas baki alumunium dalam ruang lembab >90 % RH dengan sirkulasi udara segar lancar. Waktu fermentasi masing-masing selama 90-120 menit. Proses akhir, bubuk teh dari masing-masing perlakuan dikeringkan dalam rak pengering blower dengan suhu 100°C selama $\pm 30-60$ menit hingga bubuk teh berkadar air 2-3%.

Perlakuan Kontrol (C): Pelayuan normal pada pengolahan rutin menggunakan program pengolahan ortodoks rotorvane dengan rangkaian dimana pucuk teh segar sebanyak 25 kg

dilayukan dalam WT ukuran 1 m^2 . Udara kering suhu $25-30^{\circ}\text{C}$ dihembuskan selama ± 16 jam hingga diperoleh pucuk teh layu dengan kadar air kisaran 54-56%. Selanjutnya digiling menggunakan *roller* (RL) dan *rotorvane* (RV) 6 inci selama 60 menit menghasilkan bubuk teh. Lalu bubuk teh tersebut difermentasi di atas baki alumunium selama 110 menit dalam ruang lembab >90 % RH. Proses akhir, bubuk dikeringkan dalam rak pengering blower dengan suhu 100°C selama $\pm 30-60$ menit hingga bubuk teh berkadar air 2-3%. Susunan perlakuan pada pelayuan sebagai berikut:

A1 = Perlakuan A, kadar air antara 60%, total waktu 18 jam (1 hari)

A2 = Perlakuan A, kadar air antara 65%, total waktu 18 jam (1 hari)

A3 = Perlakuan A, kadar air antara 70%, total waktu 18 jam (1 hari)

B1 = Perlakuan B, kadar air antara 60%, total waktu 42 jam (2 hari)

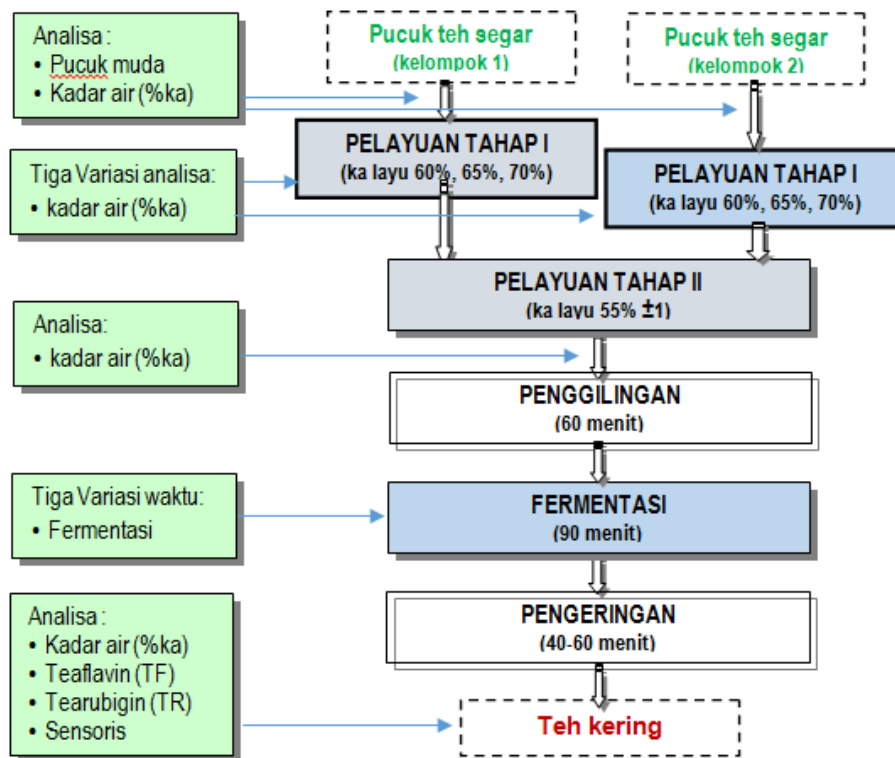
B2 = Perlakuan B, kadar air antara 65%, total waktu 42 jam (2 hari)

B3 = Perlakuan B, kadar air antara 70%, total waktu 42 jam (2 hari)

C = Perlakuan kontrol, pelayuan normal, total waktu 18 jam (1 hari)

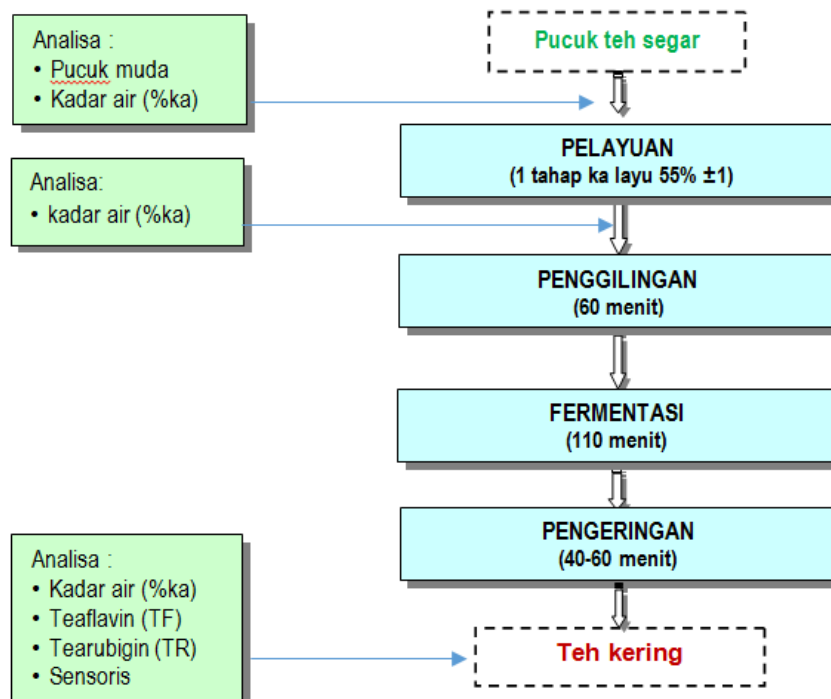
Karakter yang diamati

Karakter yang diamati meliputi: kadar air menggunakan *brabender moisture taster*, kandungan TF, TR, rasio TF/TR diuji dengan metode Robert dan Smith dalam Hilton (1973) menggunakan Spektrofotomer UV-Vis Merk Cary 50 Varian pada panjang gelombang 380 nm dan diuji sensoris/organoleptik menggunakan SNI 01-1902-1995 Teh Hitam butir 6.2 (Anonim, 1995).



GAMBAR 1.

Diagram Alir Perlakuan A dan B



GAMBAR 2.

Diagram Alir Perlakuan C (Kontrol)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan TF dan TR

Hasil analisis TF dan TR pada teh hitam yang diolah menggunakan metode

pelayuan kimia bertahap diperlihatkan pada Tabel 1 di bawah ini.

TABEL 1.

Kandungan TF dan TR Pada Teh hitam yang diolah menggunakan metode pelayuan kimia bertahap.

Perlakuan	TF (% bk)	TR (% bk)	Rasio TR/TFa
A1	1,04 ±0,03	14,88 ±1,15	14,30
A2	1,02 ±0,05	14,20 ±1,12	13,92
A3	1,24 ±0,05	14,91 ±1,06	12,02
Rerata	1,10 ±0,12	14,66±0,44	13,41
B1	0,91 ±0,06	14,82 ±1,11	16,29
B2	1,05 ±0,05	15,58 ±1,10	14,84
B3	0,94 ±0,04	15,78 ±1,02	16,79
Rerata	0,97 ±0,07	15,39 ±0,50	15,97
C	0,92 ±0,01	13,69 ±0,79	14,82

Hasil analisis menunjukkan bahwa semua perlakuan baik untuk musim plus, minus maupun kontrol menghasilkan teh hitam dengan kandungan TF yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 0,91 ±0,06 % bk hingga 1,24 ±0,05 % bk. Tabel 1 juga memperlihatkan bahwa perlakuan pada musim plus menghasilkan rata-rata kandungan TF yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu perlakuan pada musim minus (0,97 ±0,07 % bk) dan kontrol (0,92 ±0,01 % bk). Tingginya kandungan TF baik pada musim plus maupun minus dibandingkan dengan kontrol sangat dimungkinkan mengingat lama oksidasi enzimatis pada kedua perlakuan tersebut adalah selama 90 menit, sedangkan perlakuan kontrol, lamanya oksidasi enzimatis adalah 110 menit. Sejumlah publikasi menyatakan bahwa lama oksidasi sangat mempengaruhi kandungan TF. Semakin lama oksidasi

enzimatis, kandungan TF-nya akan semakin berkurang. Selama oksidasi enzimatis atau fermentasi berlangsung, sebagian TF akan berubah menjadi TR (Baruah *et al.*, 2012; Omiadze *et al.*, 2014; Bhuyan *et al.*, 2015).

Hasil analisis terhadap TR menunjukkan bahwa perlakuan pada musim minus menghasilkan rata-rata kandungan TR yang lebih tinggi yaitu 15,39% bk diikuti oleh perlakuan pada musim plus dan kontrol masing-masing sebesar 14,66% bk dan 13,69% bk. Hasil analisis terhadap TR memperlihatkan bahwa oksidasi enzimatis selama 90 menit menghasilkan kandungan TR yang tinggi. Hasil ini menegaskan bahwa oksidasi yang maksimum pada penelitian ini adalah 90 menit. Teori menyatakan bahwa selama proses oksidasi enzimatis katekin akan berubah menjadi TF dan TR. Selanjutnya, sebagian TF akan berubah menjadi TR. Namun demikian, lama kelamaan sebagian TR akan berubah

menjadi senyawa yang tidak larut dalam air sehingga kandungan TRnya akan berkurang (Bhuyan *et al.*, 2015; Kumar dan Pou, 2016).

Salah satu parameter yang umum digunakan untuk mengevaluasi kualitas teh hitam adalah melalui analisis rasio antara kandungan TR terhadap TF. He (2017) menyatakan bahwa teh hitam idealnya mempunyai rasio perbandingan TR dan TF sebesar 10 sampai dengan 12 dimana teh hitam akan kehilangan kualitasnya apabila rasio TR terhadap TF lebih dari 20.

Hasil analisis sesuai tabel diatas memperlihatkan bahwa rasio kandungan TR terhadap TF berkisar antara 12,02 sampai dengan 16,79 (Akuli *et al.*, 2011). Tingginya rasio tersebut disebabkan tingginya kandungan TR meskipun kandungan TFnyapun relatif tinggi. Angka di atas juga menggarisbawahi bahwa oksidasi enzimatis selama 90 menit dinilai

sudah maksimal menghasilkan TR yang tinggi.

Tingginya TR tersebut tidak serta merta meningkatkan kualitas teh hitamnya, oleh karena itu lama oksidasi 90 menit tersebut perlu dikurangi (kurang dari 90 menit). Lama oksidasi enzimatis dikurangi dengan harapan perubahan sebagai TF menjadi TR akan lebih terkendali, dengan demikian kandungan TRnya tidak setinggi saat dioksidasi selama 90 menit (Bhuyan *et al.*, 2015).

Analisis Organoleptik

Pengujian organoleptik terhadap sampel teh kering dilakukan oleh dua atau lebih *Tea Taster* berpengalaman dan bersertifikat dari Laboratorium Pengujian PPTK yang terakreditasi KAN. Hasil rata-rata pengujian organoleptik terhadap sampel teh kering hasil perlakuan tertera dalam Tabel 2 berikut ini.

TABEL 2.
Hasil Rata-rata Pengujian Sensoris (Organoleptik)

Sampel	Penampakan (A-E)	Seduhan			Ampas (a-e)
		Warna (1-5)	Rasa (21-49)	Aroma (1-5)	
A1	B	4.00	36.33	3.33	B
A2	B	4.00	36.33	2.67	B
A3	B	4.00	37.00	3.33	B
B1	B	4.67	36.33	3.33	B
B2	C	4.00	37.00	3.33	B
B3	B	4.00	37.00	3.33	B
C1	B	3,78	36.67	3.22	B

Keterangan: metode SNI 01-1902-1995 Teh Hitam butir 6.2

Hasil pengujian organoleptik terhadap sampel produk menunjukkan bahwa dari segi penampakan teh kering yang dihasilkan secara umum mempunyai penampakan yang baik (SNI 01-1902-1995 Teh Hitam butir 6.2). Hal ini dibuktikan dengan nilai yang diberikan oleh panelis sebagian besar memberikan nilai B yang

berarti baik. Proses pelayuan sangat erat kaitannya dengan penampakan teh hitam yang dihasilkan. Dalam proses pengolahan teh hitam, warna hitam dari teh kering timbul sebagai akibat proses kimia oksidasi enzimatis, karamelisasi dan perombakan klorofil (Yamanishi, 1995; Baruah *et al.*, 2012; Bhuyan *et al.*, 2015).

Perombakan zat klorofil dapat terjadi melalui dua proses: 1). Akibat pengaruh pH dimana klorofil akan melepas atom Mg menghasilkan klorofilat yang akhirnya menghasilkan feofitin yang berwarna hitam, dan 2). Klorofil dirombak oleh enzim klorofilase membentuk feofirbida yang berwarna kecoklatan (Yamanishi, 1995; Baruah *et al.*, 2012; Bhuyan *et al.*, 2015).

Proses perombakan klorofil akibat kondisi pH sudah dimulai sejak pucuk teh dilayukan yang bisa dilihat oleh adanya perubahan warna daun dari hijau segar menjadi kekuning-kuningan. Proses perombakan klorofil oleh enzim hanya terjadi apabila dalam pengolahan teh hitam, proses perombakan klorofil akibat kondisi pH lebih banyak terjadi daripada perombakan enzimatik, maka teh kering yang dihasilkan akan lebih banyak berwarna kehitaman. Hal ini menunjukkan bahwa proses pelayuan kimia memegang peranan yang penting untuk menghasilkan warna hitam pada teh jadi (Yamanishi, 1995; Baruah *et al.*, 2012; Bhuyan *et al.*, 2015).

Secara umum, teh jadi hasil percobaan pelayuan bertahap baik pada musim plus maupun musim minus lebih hitam dibandingkan dengan kontrol. Hal ini sangat dimungkinkan mengingat proses pelayuan bertahap mengalami proses pelayuan yang lebih lama dibandingkan dengan kontrol. Pada proses pelayuan bertahap, pelepasan atom Mg untuk menghasilkan klorofilat berlangsung lebih sempurna (Yamanishi, 1995; Bhuyan *et al.*, 2015).

Hampir senada dengan penampakan teh kering, warna seduhan hasil pelayuan

dua tahap baik pada musim plus maupun minus lebih baik daripada kontrol. Hal ini senada dengan pengujian kimia, TF dan TR pelayuan bertahap lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Namun hal ini berbeda dengan pengujian rasa dan aroma dimana proses pelayuan dua tahap pada musim minus lebih baik hasilnya dibandingkan dengan pelayuan kontrol dan pelayuan bertahap musim plus (Baruah *et al.*, 2012; Bhuyan *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Baik secara kimia TF, TR maupun organoleptik, proses pelayuan kimia dua tahap ini mampu mempertahankan kualitas teh hitam, walaupun diolah dalam kondisi yang tidak sesuai standar operasional dan bahkan beberapa perlakuan hasilnya lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Akuli, A., A. Pall, A. Ghosh, N. Bhattacharyya, R. Bandhopadhyaya, P. P. Tamuly, and N. Gogo. (2011). Estimation of *Theaflavins* (TF) and TRs (TR) Ratio in Black Tea Liquor Using Electronic Vision System AIP *Conference Proceedings* 1362, 253. <https://doi.org/10.1063/1.3626379>
- Anonim. (2008). Pengolahan Teh Hitam. Hal. 24-62. Dalam J. Santoso, R. Suprihatini, T. Abas D. Rohdiana, Shabri (Ed.). *Petunjuk Teknis Pengolahan Teh*. Bandung: Pusat Penelitian Teh dan Kina.

- Anonim (1995). SNI 01-1901-1995 Teh Hitam. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Baruah, D., L. P. Bhuyan and M. Hazarika. (2012). Impact of moisture loss and temperature on biochemical changes during withering stage of black tea processing on four Tocklai released clones. *Two and a Bud* 59 (2):134-142.
- Bhuyan, L.P., P. Borah, S. Sabhapondit, R. Gogoi, and P. Bhattacharyya. (2015). Spatial variability of *Theaflavins* and *Thearubigins* fractions and their impact on black tea quality. *J. Food Sci Technol*. 52(12): 7984-7993. Doi: 10.1007/s13197-015-1968-z
- Das, SK. (2006). Further increasing the capacity of tea leaf withering troughs. *Agricultural Engineering International* 3: 5-12.
- Fard, F. S., H. R. Ghassemzadeh and S. B. Salvatian. (2015). Impact of withering time duration on some biochemical properties and sensory quality attributes of black tea. *Biological Forum an International Journal* 7(1):1045-1049.
- He, H. F. (2017). Research progress on *Theaflavin*: efficacy, formation, and preparation. *Food Nutr Res*. 61(1): 1344521. doi: 10.1080/16546628.2017.1344521
- Hilton, P. J. (1973). Tea. In Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis Vol. 8, Editor by F. D. Snell and L. S. Ettre. John Wiley, New York. p. 455-526.
- Jabeen, S., S. Alam, M. Saleem, W. Ahmad, R. Bibi, F. S. Hamid and H. U. Shah. (2015). Withering timings affect the total free amino acids and mineral contents of tea leaves during black tea manufacturing. *Arabian Journal of Chemistry*. doi: 10.1016/j.arabjc.2015.03.011
- Pou, K.R.J. (2016). Fermentation: The Key Step in the Processing of Black Tea. *Journal of Bio Systems Engineering* 41(2):85-92.,
- Jose, M.S.F. (1999). Two Stages Chemical Withering. Quarterly Newsletter-Tea Research Foundation, Central Kenya. No. 134 Ed. April 1999: 11-12
- Kumar, S. and K. R. J. Pou. (2016). Assessment of bio-energy potential in tea industries of India. *Asian Journal of Agriculture and Rural Development* 6(5):83-89.
- Liang, Y., J. Lu, L. Zhang, S.H. Wu and Y. Wu. (2003). Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chemistry* 80: 283-290.
- Omiadze, N.T., N.I. Mchedlishvili, J.N. Rodrigez-Lopez, M.O. Abutidze, T.A. Sadunishvili and N.G. Pruidze. (2014). Biochemical processes at the stage of withering during black tea production. *Applied Biochemistry and Microbiology* 50(4): 394-397.
- Owuor, P.O. dan M. Obanda. (1998). The changes in black tea quality due to variation of plucking standard and fermentation time, *Food Chem*. 61 p. 435-441

- Owuor, P.O. dan J. E. Orchard. (1992). Effects of storage time in a two-stage withering process on the quality of seedling black tea. *Food Chemistry* 45:45-49.
- Owuor, P.O. dan O. B. Kwach. (2012). Quality and yields of black tea *camellia sinensis* L. O. Kuntze in responses to harvesting in Kenya: a review. *Asian J. Biol. Life Sci.* 1 (1)
- Patil, R.H., K. Raju, dan P.D. Virkar. (2002). Black tea manufacture. United States Patent 6,348,224 (February 19, 2002)
- Sarma, G. (2000). Tea Technology. Assam Review Publishing Co. Calcuta-India
- Singh, D., T. Samanta, S.H. Das, A.K. Ghosh, A. Mitra and B.C. Ghosh. (2012). Development of a customized trough to study withering of tea leaves. *Two and a Bud* 59(2):143-147.
- Tomlins, K.I., N.B. Chafikana dan R.T. Khumbanyiwa. (1997). Withering: Influence of Turning The Leaf on The Rate of Moisture Loss and on Black Tea Quality. Quarterly Newsletter-Tea Research Foundation, Central Kenya 126, 13-17
- Yamanishi, T. (1995). Biochemistry of Processing Black Tea. *Food Review* 11 (3), 457 - 471.
- Zhao, J. dan T.J. Slaga. (2004). Processing method for manufacturing black tea and an improved black tea. United States Patent 6,811,799 (November 2, 2004).