

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) oleh teh putih berdasarkan suhu dan lama penyeduhan

(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) free radical scavenging activity of white tea base on temperature and period of brewing

Dadan Rohdiana¹, Dede Zainal Arief², Mamay Somantri²

¹Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung, Bandung

²Jurusan Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung

Diajukan: 8 Maret 2013; diterima: 9 April 2013

Abstract

Research of 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity has been done conducted on Laboratory of Quality Assesment, Research Institute for Tea and Cinchona, and Laboratory of Chemistry, Chemistry Department, Faculty of Matematic and Natural Science, Padjdjaran University. The result showed that among four white tea from different estates, total polyphenol content on Gambung White Tea has the highest. Total polyphenol content of Gambung white tea i.e 25,52%. Brewing process on 95°C for 9 minutes obtained the highest polyphenol content on tea infusion i.e. 6,01% and the lowest EC₅₀ i.e. 35,41 µl/ml. This research showed that presence of positive correlation between total polyphenol and antioxidant activity base on EC₅₀. The correlation value in this research i.e. 0,9066.

Keyword: white tea, polyphenol, temperature, period, brewing, DPPH

Abstrak

Penelitian aktivitas penangkapan radikal bebas 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) telah dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu, Pusat Penelitian Teh dan Kina, dan Laboratorium Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran. Hasil analisis kandungan polifenol total terhadap empat teh putih dari perkebunan yang berbeda menunjukkan bahwa teh putih dari Gambung mempunyai kandungan polifenol tertinggi, yaitu 25,52%. Penyeduhan pada suhu 95°C selama 9 menit menghasilkan kandungan polifenol total tertinggi, yaitu 6,01% dengan EC₅₀ sebesar 35,41 µl/ml. Pada penelitian ini terdapat hubungan yang sangat kuat antara kandungan polifenol total dengan aktivitas penangkapan radikal bebas yang dinyatakan sebagai EC₅₀ dengan nilai korelasi sebesar 0,9066.

Kata kunci: teh putih, polifenol, suhu, lama, penyeduhan, DPPH

PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) merupakan minuman kedua yang paling banyak dikonsumsi di dunia setelah air mineral (Fanaro *et al.*, 2009). Produksi teh kering (termasuk yang digunakan untuk membuat seduhan teh) diperkirakan mencapai 1,8 juta ton per tahun dan sanggup menyediakan 40 liter seduhan teh per kapita di dunia (Cheng *et al.*, 2008).

Berdasarkan proses pengolahannya, teh diklasifikasikan menjadi teh fermentasi (teh hitam), semifermentasi (teh oolong), dan nonfermentasi (teh hijau). Proses pengolahan teh selanjutnya mengalami diversifikasi menjadi beberapa pengolahan yang khusus, di antaranya teh putih (Karori *et al.*, 2007).

Dibanding dengan jenis teh lainnya, teh putih lebih efektif dalam menangkalkan radikal bebas (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) atau DPPH (Gramza *et al.*, 2008; Kikuzaki, *et al.*, 2002). Hal ini sangat memungkinkan mengingat teh putih diproses hanya dari pucuk pertamanya (Hilal dan Engelhardt, 2007). Semakin muda daun teh, kandungan polifenol sebagai senyawa antioksidannya semakin tinggi (Rohdiana dan Widiantara, 2004).

Sebelum diminum, teh terlebih dahulu harus diseduh dengan air panas. Lama dan suhu penyeduhan merupakan faktor penentu terekstraknya senyawa yang terdapat dalam teh. Teknik penyeduhan dengan suhu tinggi; suhu didih air (100°C untuk daerah bertekanan 1 Atm) tidak dianjurkan apabila ingin mendapatkan manfaat dari polifenol secara optimal. Cara penyeduhan dengan suhu sedang, sekitar 60°C yang banyak dilakukan oleh orang Jepang terbukti cukup bermanfaat menghasilkan polifenol secara optimal (Rohdiana, 2009).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan polifenol teh putih dan aktivitasnya dalam menangkalkan radikal bebas DPPH.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa teh putih yang berasal dari empat kebun yang berbeda. Keempat teh putih tersebut dianalisis kandungan polifenol totalnya dengan menggunakan metode *Follin-Ciocalteu* (Chen dan Ho, 1995). Teh putih dengan kandungan polifenol total tertinggi selanjutnya divariasikan suhu (55°C, 75°C, dan 95°C) dan lama penyeduhan (3 menit, 6 menit, dan 9 menit) untuk memperoleh kandungan polifenol dan aktivitas penangkalkan radikal bebas tertinggi dengan menggunakan metode DPPH (Yen dan Chen, 1995) yang dinyatakan dalam *Effective Concentration* 50 (EC₅₀, µl/ml). Data polifenol total dan aktivitas penangkalkan radikal bebas kemudian dilihat hubungannya dengan menggunakan persamaan regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Polifenol total

Hasil analisis kandungan polifenol total terhadap empat teh putih dari kebun yang berbeda menunjukkan bahwa teh putih Gambung mempunyai kadar polifenol total tertinggi, yaitu 25,52%. Selanjutnya, teh putih Gambung ini diseduh dengan variasi suhu dan lama penyeduhan yang sudah ditentukan. Hasil analisis kandungan poli-

fenol total teh putih Gambung berdasarkan suhu dan lama penyeduhan dapat dilihat pada Tabel 1.

TABEL 1

Kandungan polifenol total seduhan teh putih berdasarkan suhu dan lama penyeduhan

Lama (menit)	Suhu (°C)		
	55	75	95
3	1,27 ± 0,12 ^f	3,12 ± 0,18 ^d	2,82 ± 0,15 ^{de}
6	2,54 ± 0,15 ^e	3,89 ± 0,21 ^c	4,50 ± 0,21 ^{bc}
9	2,57 ± 0,13 ^e	4,86 ± 0,20 ^b	6,01 ± 0,22 ^a

Keterangan:

Rata-rata perlakuan yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan pada taraf 5%.

Hasil analisis kandungan polifenol total seperti tertera pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa semakin tinggi suhu dan lama penyeduhan, kandungan polifenol totalnya semakin tinggi. Rohdiana (2008) menyatakan bahwa bertambahnya lama penyeduhan menyebabkan kesempatan kontak antara air penyeduh dengan teh semakin baik. Proses ekstraksi menjadi lebih sempurna dan kandungan polifenol total semakin meningkat mengingat bahwa polifenol merupakan senyawa yang larut dalam air. Suzuki *et al.*, (2003) dalam sebuah hasil penelitiannya terhadap teh hijau dan teh oolong yang diseduh selama tiga menit dengan variasi suhu penyeduhan 30⁰C, 60⁰C, dan 90⁰C menunjukkan bahwa kandungan polifenolnya terus mengalami peningkatan karena semakin tinggi suhu air penyeduh, kemampuan air dalam mengekstrak kandungan kimia yang terdapat dalam teh akan semakin tinggi.

Pada suhu 55⁰C, penyeduhan selama tiga menit menghasilkan seduhan dengan kandungan polifenol total sebesar 1,27%. Penyeduhan selama enam menit menghasilkan seduhan dengan kandungan polifenol

total sebesar 2,54%. Penambahan lama penyeduhan dari tiga menit menjadi enam menit berhasil meningkatkan kandungan polifenol total secara signifikan, yaitu sebesar 100%. Sementara itu, penambahan lama penyeduhan dari enam menit menjadi sembilan menit tidak meningkatkan kandungan polifenol total secara signifikan, yaitu hanya 0,03%.

Berkurangnya aktivitas ekstraksi terjadi sebagai akibat penurunan suhu dalam sistem selama proses penyeduhan. Penurunan suhu terjadi karena adanya perbedaan suhu antara air penyeduh, teh putih, dan lingkungan. Air penyeduh mempunyai suhu yang lebih tinggi daripada teh putih dan lingkungan sehingga terjadi perambatan panas secara konduksi terhadap teh putih dan konveksi terhadap lingkungan (Rohdiana, 2011).

Pada suhu 75⁰C, penyeduhan selama tiga menit menghasilkan seduhan teh dengan kandungan polifenol total sebesar 3,12%. Angka ini lebih tinggi bila dibanding dengan penyeduhan pada suhu 55⁰C untuk semua lama penyeduhan. Ketika penyeduhan dilakukan selama enam menit, kandungan polifenol totalnya meningkat menjadi 3,89% atau mengalami peningkatan sebesar 24,68% dari penyeduhan selama tiga menit. Hal ini juga berlaku saat penyeduhan dilakukan selama sembilan menit, kandungan polifenol totalnya meningkat menjadi 4,86% atau mengalami peningkatan sebesar 24,94% dibanding dengan penyeduhan selama enam menit. Pada suhu ini, penyeduhan berdasarkan lama penyeduhan menunjukkan peningkatan kandungan polifenol total yang linear.

Pada suhu 95⁰C, penyeduhan selama tiga menit menghasilkan seduhan dengan kandungan polifenol total sebesar 2,82%.

Angka ini lebih rendah bila dibanding dengan penyeduhan pada suhu 75⁰C. Penyeduhan tiga menit pada suhu 95⁰C dinilai belum optimal. Akibat terlalu tingginya suhu penyeduhan pada tahap awal atau penyeduhan tiga menit tidak hanya polifenol yang terekstrak, golongan kimia lain termasuk alkaloid juga akan berkompetisi untuk sama-sama terekstrak. Penyeduhan pada suhu tinggi dengan waktu yang singkat lebih bertujuan untuk menyiapkan proses ekstraksi yang lebih sempurna. Hal ini terbukti pada penyeduhan selama enam menit dan sembilan menit ketika kandungan polifenol totalnya meningkat secara signifikan masing-masing menjadi 4,50% atau meningkat sebesar 59,57% dari penyeduhan tiga menit; dan 6,01% atau mengalami peningkatan sebesar 33,56% dari penyeduhan enam menit atau 113,12% dari penyeduhan selama tiga menit.

Di samping lama penyeduhan, suhu penyeduhan pun sangat berpengaruh terhadap kandungan polifenol total dalam seduhan teh putih Gambung. Secara umum, meningkatnya suhu pada lama penyeduhan yang sama telah meningkatkan kandungan polifenol total pada setiap perlakuan, kecuali pada penyeduhan tiga menit pada suhu 95⁰C meskipun secara statistik tidak berbeda nyata.

Penangkapan radikal bebas DPPH

Untuk melihat sejauh mana pengaruh penyeduhan terhadap potensi manfaatnya bagi kesehatan, maka seduhan yang dihasilkan dianalisis aktivitas antioksidannya melalui uji penangkapan radikal bebas DPPH. Hasil analisis penangkapan radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Tabel 2.

TABEL 2

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH seduhan teh putih Gambung berdasarkan suhu dan lama penyeduhan

Lama (menit)	Suhu (°C)		
	55	75	95
3	119,55 ± 8,67 ^a	70,05 ± 5,89 ^c	76,76 ± 5,01 ^{bc}
6	81,11 ± 6,18 ^b	49,88 ± 3,81 ^d	49,48 ± 3,54 ^d
9	77,53 ± 5,23 ^{bc}	44,20 ± 3,66 ^{de}	35,41 ± 3,89 ^e

Keterangan:

Rata-rata perlakuan yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan pada taraf 5%.

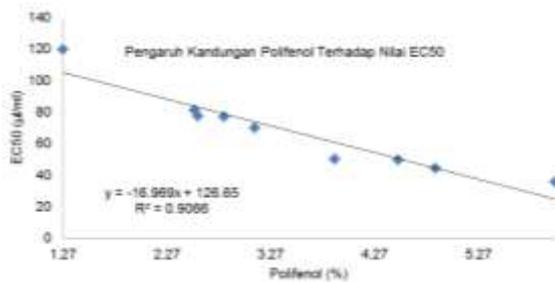
Hasil analisis pada Tabel 2 menyatakan bahwa semakin tinggi suhu dan semakin lama penyeduhan, maka kemampuannya dalam menangkap radikal bebas DPPH semakin efektif. Hal ini ditandai dengan semakin kecilnya nilai EC₅₀. Semakin kecil EC₅₀, artinya seduhan tersebut semakin efektif dalam menangkap radikal bebas.

Pada suhu 55⁰C, semakin lama penyeduhan, maka efektivitasnya dalam menangkap radikal bebas DPPH adalah semakin baik yang ditandai dengan semakin rendahnya nilai EC₅₀. Penyeduhan selama tiga menit memberikan nilai EC₅₀ sebesar 119,55 µl/ml. Sementara itu, penyeduhan enam menit dan sembilan menit memberikan nilai EC₅₀ masing-masing sebesar 81,11 µl/ml dan 77,53 µl/ml. Kecenderungan ini berlaku untuk penyeduhan suhu 75⁰C dan 95⁰C dengan nilai EC₅₀ untuk setiap penyeduhan tiga menit, enam menit, dan sembilan menit adalah 70,05 µl/ml; 49,88 µl/ml; dan 44,20 µl/ml; serta 76,76 µl/ml; 49,48 µl/ml; dan 35,41 µl/ml.

Korelasi polifenol total dengan penangkapan radikal bebas DPPH

Kemampuan dalam menangkap radikal bebas tidak terlepas dari tinggi rendahnya kandungan polifenol total pada

seduhan tersebut. Untuk melihat seberapa besar pengaruh kandungan polifenol total terhadap penangkapan radikal bebas DPPH (EC₅₀), dibuatlah grafik korelasi di antara keduanya. Hasil korelasi keduanya dapat dilihat pada Gambar 1.



GAMBAR 1
Korelasi antara polifenol total terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (EC₅₀)

Hasil analisis regresi pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa persamaan untuk polifenol total pada seduhan teh putih terhadap EC₅₀ DPPH adalah $y = -16,969x + 126,65$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9066. Persamaan ini mempunyai koefisien korelasi sebesar -7.522 atau berada di daerah penolakan h_0 sehingga koefisien ini dinyatakan berarti atau layak digunakan dalam persamaan regresi. Sedangkan persamaan regresi tersebut dinyatakan linear ($p > 0.05$) atau layak diberlakukan dalam memprediksi jumlah penangkapan radikal bebas DPPH oleh jumlah polifenol yang ada dalam seduhan.

Rice-Evans (1995) menjelaskan bahwa polifenol bertindak sebagai antioksidan atau menangkap radikal bebas melalui empat mekanisme, yaitu: (1) melucuti radikal bebas, (2) sebagai donator hidrogen untuk mencegah pembentukan radikal bebas, (3) menonaktifkan oksigen tunggal yang bertindak sebagai radikal bebas, dan (4) menangkap logam, yaitu dengan cara berikatan

dengan logam yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Kemampuan penangkapan radikal bebas oleh komponen polifenol juga dapat dilihat sebagai kemampuan menyumbangkan hidrogen. Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanisme aktivitasnya sebagai antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penyeduhan pada suhu 95°C selama sembilan menit menghasilkan kandungan polifenol total paling tinggi, yaitu sebesar 6,01% dengan EC₅₀ terkecil, yaitu 35,41 µl/ml. Semakin tinggi kandungan polifenol pada seduhan, maka aktivitas penangkapan radikal bebasnya semakin kuat.

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut mengenai analisis golongan kimia lain di luar polifenol dan komponen bioaktif yang paling potensial di dalam teh putih Gambung.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, C.W. dan C.T. Ho. 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted green and black teas. *J. Food Lipids* 2: 3546.
- Chen, H.Y. dan G.C. Yen. 1995. Antioxidant of various tea extract it relationship to their antimutagenicity. *J. Agrc. Food. Chem.* 43: 27-32.
- Cheng, Y., T. Huynh-Ba, I. Blank, dan F. Robert. 2008. Temporal changes in aroma release of Longjing tea infu-

- sion: interaction of volatile and nonvolatile tea components and formation of 2-Butyl-2-Octenal upon aging. *J. Agric. Food Chem.* 56: 2160–2169.
- Droge, Wulf. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *American Physiological Society* 82: 47-95.
- Fanaro, G.B., A.P.M. Silveira, T.C.F. Nunes, H.S.F. Costa, E. Purgatto, dan A.L.C.H. Villavicecio. 2009. Effect of I-radiation on white tea volatiles. *International Nuclear Atlantic Conference (INAC)*. Sep.27 to 2 Okt. Rio de Janeiro, Brazil.
- Gramza-Michalowska, A.2008. Antioxidant potential and radical scavenging activity of different fermentation degree tea leaves extracts. *ACTA Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria* 7(4): 15-28.
- Gramza-Michalowska, A., J. Korczak, dan D. Kmiecik. 2007. Green tea extracts obtained after different brewing methods antioxidative properties in lipid systems. *5th Euro Fed Lipid Congress and 24th Nordic Lipid Symposium, "Oils, Fats and Lipids: from Science to Applications"*. 16-19 September. Goteburg, Sweden.
- Hilal, Y., dan U. Engelhardt. 2007. Characterization of white tea comparison to green and black tea. *J. Verbr. Lebensm.* 2: 414-421.
- Karori, S.M., F.N. Wachira, J.K. Wanyoko; dan R.M. Ngure. 2007. Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology* 6(19): 2287-2296.
- Kikuzaki, H., M. Hisamoto, K. Hirose, K. Akiyama, dan H. Taniguchi. 2002. Antioxidant properties and ferulic acid and its related compound. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2161-2168.
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller, P.G. Bolwell, P.M. Bramley, dan J.B. Pridham. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic. Res.* 22: 375-83.
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller, dan G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-9.
- Rohdiana, D. dan T. Widianara. 2004. Aktivitas antioksidan beberapa klon teh unggulan. *Prosiding Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*. 17-18 Desember. Jakarta.
- Rohdiana, Dadan. 2009. *Teh ini Menyehatkan, Telaah Ilmiah Populer*. Bandung: Alfabeta.
- Rohdiana, Dadan; Wisnu Cahyadi; dan Trisna Risnawati. 2008. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl) beberapa jenis minuman teh. *Jurnal Teknologi Pertanian* 3(2): 79-81.
- Suzuki, M., M. Sano, R. Yosidha, M. Degawa, T. Mitase, dan M.M. Yamamoto. 2003. Epimerization of tea catechin and O-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate: Relationship between epimerization and chemical structure. *J. Agric. Food Chem.* 51: 510-514.