

# Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) beberapa minuman teh dalam kemasan

## *Activity DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging of some ready to drink teas on*

**Dadan Rohdiana dan Shabri**

*Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung  
Pasirjambu, Kabupaten Bandung; Kotak Pos 1013 Bandung 40010  
Telepon 022 5928780, Faks. 022 5928186*

*Diajukan: 13 Juli 2012; diterima 13 Agustus 2012*

### **Abstract**

*Research of free radical scavenging activity of some ready to drink tea (RTD-Tea) was carried out. Generally, the result showed that tea beverages have a good of scavenging activity against DPPH free radical. T-AR was RTD-tea which has the stronger scavenging activity against DPPH free radical. This RTD-tea has a low of  $EC_{50}$  value i.e. 63,55  $\mu\text{l/ml}$ . The scavenging activity followed were T-ES (63,95  $\mu\text{l/ml}$ ), T-UP (65,75  $\mu\text{l/ml}$ ), T-RO (86,85  $\mu\text{l/ml}$ ), T-LI (91,15  $\mu\text{l/ml}$ ), T-TA (107,53  $\mu\text{l/ml}$ ), T-NG (125,36  $\mu\text{l/ml}$ ) and T-AK (756,14  $\mu\text{l/ml}$ ) respectively.*

**Keywords:** *ready to drink tea, scavenging activity, free radical, DPPH*

### **Abstrak**

Penelitian aktivitas penangkapan radikal bebas oleh beberapa minuman teh dalam kemasan siap saji telah dilakukan. Secara umum hasil analisis menunjukkan bahwa minuman the mempunyai aktivitas penangkapan yang baik terhadap radikal bebas DPPH. T-AR merupakan minuman dengan aktivitas paling kuat. Minuman tersebut mempunyai nilai  $EC_{50}$  yang paling kecil, yaitu 63,55  $\mu\text{l/ml}$  diikuti T-ES (63.95  $\mu\text{l/ml}$ ), T-UP (65.75  $\mu\text{l/ml}$ ), T-RO (86,85  $\mu\text{l/ml}$ ), T-LI (91.15  $\mu\text{l/ml}$ ), T-TA (107.53  $\mu\text{l/ml}$ ), T-NG (125.36  $\mu\text{l/ml}$ ) and T-AK (756.14  $\mu\text{l/ml}$ ) berturut-turut.

**Kata kunci:** minuman teh dalam kemasan, aktivitas penangkapan, radikal bebas, DPPH

## **PENDAHULUAN**

Dalam satu dekade terakhir, sejumlah penelitian yang mengangkat potensi teh sebagai minuman kesehatan telah banyak dilakukan (Atoui *et al.*, 2005; Menet *et al.*,

2004). Sejumlah penelitian secara epidemiologi menyatakan bahwa teh mampu mereduksi resiko terjadinya penyakit kardiovaskular dan kanker pada manusia (Krishnan and Maru, 2004; Gal *et al.*, 2004). Efek kesehatan yang diterbitkan oleh teh tersebut

tidak dapat dilepaskan oleh keberadaan polifenol yang menyusun lebih dari 30% berak kering teh (Lu *et al.*, 2004; Fukuda *et al.*, 2004). Namun demikian, polifenol yang dimiliki oleh teh menimbulkan rasa sepet dan pahit (Rohdiana, 2004; Rio *et al.*, 2004). Untuk mengatasi rasa yang kurang digemari tersebut, sejumlah perusahaan telah mengeluarkan produknya dalam bentuk minuman yang telah diberi pemanis dan sumber asam. Apakah setelah penambahan pemanis dan sumber asam ini minuman teh masih mampu menurunkan resiko penyakit kardiovaskular dan kanker pada manusia? Penelitian ini akan mengevaluasi kemampuan beberapa minuman teh yang beredar dipasaran dalam menangkap radikal bebas DPPH yang merupakan salah satu penyebab utama terjadinya atherosklerosis.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung dan Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (F-MIPA) Universitas Padjadjaran pada tahun 2007.

### Evaluasi kandungan polifenol

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas delapan merk minuman teh yang beredar dipasaran masing-masing dinyatakan sebagai T-AK, T-AR, T-UP, T-RO, T-ES, T-TA, T-NG, dan T-LI. Analisis Total Polifenol dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu yang dikembangkan oleh Kulisic *et al.*, (2006). 10 ml larutan sampel kemudian diencerkan lagi dalam labu takar 100 ml dan diambil 4 ml. Lalu dimasukkan kedalam tabung dan di-

tambah 0,3 ml  $\text{FeCl}_3$  0,1 M; 0,3 ml  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,008 M lalu diaduk dan diamkan selama 10 menit. Kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometri dan dibaca absorbansinya pada  $\lambda = 720$  nm dengan absorbansi = 0 untuk blanko.

### Analisis penangkapan radikal bebas DPPH

Hasil analisis polifenol digunakan untuk menduga kemampuan penangkapan terhadap radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Analisis Penangkapan Radikal Bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri Molyneux, P. (2004)

### Preparasi sampel

Sebanyak 1,0 ml sampel diencerkan dengan methanol hingga 100,0 ml. Kemudian dibuat seri larutan sampel dengan konsentrasi tertentu

### Penyiapan larutan pereaksi

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan DPPH dengan konsentrasi 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dalam metanol proanalisis (pa), yang dibuat segar dan dijaga pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya.

Pembuatan larutan pereaksi DPPH: ditimbang sebanyak 10,0 mg DPPH yang dilarutkan dalam metanol proanalisa di dalam labu takar 10,0 ml, kemudian dikocok homogen. Dari larutan tersebut dipipet 4,0 ml dan dimasukkan ke labu ukur 100,0 ml kemudian ditambahkan metanol proanalisa sampai tanda batas didapatkan larutan pereaksi dengan konsentrasi 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

## Penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan pereaksi DPPH

Sebanyak 3,0 ml DPPH 40 µg/ml ditambah dengan 1,5 ml metanol proanalisa, dikocok homogen, disimpan tepat selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm.

## Pengukuran serapan penangkapan radikal bebas DPPH.

Pada tabung reaksi masing-masing dimasukkan larutan sampel dan larutan pembanding sebanyak 1,5 ml ditambah dengan 3,0 ml larutan pereaksi DPPH, dikocok homogen, disimpan tepat selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum dengan blanko larutan metanol proanalisa.

Perhitungan persen penangkapan

$$\% \text{ Penangkapan} = \frac{\text{Serapan larutan pereaksi} - \text{Serapan larutan uji}}{\text{Serapan larutan pereaksi}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil evaluasi kandungan polifenol dan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Tabel 1.

**TABEL 1**

Poliphenol content and Effective Concentration of Ready To Drink (RTD) Tea

Sample	Polyphenol (%)	EC50 (µl/ml)
T-AK	0,08 ± 0,01	756,14 ± 0,05
T-AR	0,31 ± 0,01	63,55 ± 0,02
T-UP	0,47 ± 0,01	65,75 ± 0,02
T-RO	0,53 ± 0,01	86,85 ± 0,03
T-ES	0,53 ± 0,01	63,95 ± 0,02
T-TA	0,56 ± 0,01	107,53 ± 0,04
T-G	0,64 ± 0,005	125,36 ± 0,04
T-LI	1,19 ± 0,01	91,15 ± 0,03

Semua sample diuji dalam empat kali ulangan

Secara umum minuman teh mempunyai nilai EC<sub>50</sub> yang rendah yaitu dibawah 100 µl/ml. Rendahnya nilai EC<sub>50</sub> ini menunjukkan bahwa minuman teh tersebut efektif dalam menangkap radikal bebas DPPH yang diketahui sebagai salah satu penyebab terjadinya atherosklerosis.

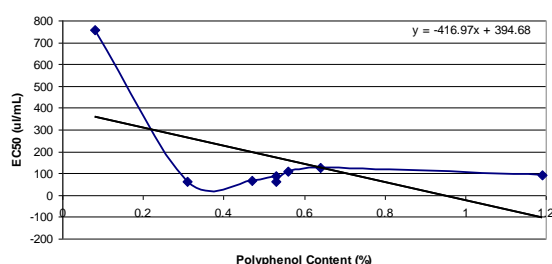
Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai EC<sub>50</sub> kurang dari (50 µg/ml), antioksidan kuat jika nilai EC<sub>50</sub> antara (50-100 µg/ml), antioksidan sedang jika nilai EC<sub>50</sub> antara (100-150 µg/ml), dan antioksidan lemah jika EC<sub>50</sub> berkisar antara (151-200 µg/ml).

Diantara delapan sampel yang diuji T-AR merupakan minuman yang paling kuat aktivitas penangkapannya terhadap radikal bebas DPPH. Hal ini dapat dilihat dari rendahnya nilai EC<sub>50</sub>-nya yaitu 63,55 µl/ml. Selanjutnya kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diikuti oleh T-ES (63,95 µl/ml), T-UP (65,75-µl/ml), T-RO (86,85 µl/ml), T-LI (91,15 µl/ml), T-TA (107,53 µl/ml), T-NG (125,36 µl/ml) dan T-AK (756,14 µl/ml).

Dua dari delapan sampel yang diuji mempunyai aktivitas yang sedang, yaitu masing-masing T-TA (107,53 µl/ml) dan T-NG (125,36 µl/ml). Bahkan ada satu sampel yang mempunyai aktivitas sangat rendah yaitu T-AK (756,14 µl/ml).

Tinggi rendahnya aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dipengaruhi oleh kandungan polifenol yang terdapat dalam minuman teh tersebut. Gambar 1 dapat memperlihatkan korelasi antara kandungan polifenol dengan aktivitas penangkapan radikal DPPH yang dinyatakan dalam nilai EC<sub>50</sub>.

Secara teoritis, semakin rendah kandungan polifenol dalam produk minuman teh, nilai  $EC_{50}$ -nya semakin tinggi (Zu *et al.*, 2001; Fujinami, *et al.*, 2001). Hal ini bisa dilihat dari produk minuman T-AK mempunyai kandungan polifenol paling kecil yaitu sebesar 0,08% mempunyai nilai  $EC_{50}$  paling tinggi yaitu 756,14  $\mu$ l/ml. Artinya, untuk menangkap 50% radikal bebas DPPH diperlukan sebanyak 756,14  $\mu$ l/ml larutan DPPH. Namun tidak demikian halnya dengan produk minuman T-AR. Meskipun kandungan polifenolnya hanya 0,31% atau menempati urutan kedua paling bawah tetapi mempunyai nilai  $EC_{50}$  paling rendah yaitu 63,55  $\mu$ l/ml larutan DPPH atau dengan kata lain produk ini mempunyai aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH-nya paling tinggi.



**FIGURE 1**

Influence of polyphenol content on ready to drink tea toward activities of DPPH free radical scavenging

Yang tidak kalah menariknya adalah produk minuman T-RO dan T-ES. Meskipun mempunyai kandungan polifenol yang sama yaitu 0,53%, tetapi nilai  $EC_{50}$ -nya cukup berbeda jauh yaitu masing-masing sebesar 86,85  $\mu$ l/ml dan 63,95  $\mu$ l/ml. Artinya, ada komponen lain yang berpengaruh terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diluar polifenol. Diduga pada produk T-ES sengaja ditambahkan sumber

asam, selain untuk menstabilkan warna dan rasa seduhan, ternyata sumber asam ini dalam jumlah yang cukup kecil secara efektif mampu meningkatkan aktivitas penangkapannya terhadap radikal bebas DPPH.

Berbeda dengan pola diatas, produk T-LI merupakan produk dengan kandungan polifenol tertinggi yaitu 1,19% tetapi mempunyai nilai  $EC_{50}$  yang cukup tinggi yaitu 91,15  $\mu$ l/ml. Dari segi rasa, produk ini mempunyai cita rasa manis dan asam yang cukup dominan. Tingginya nilai  $EC_{50}$  produk ini diduga disebabkan aktivitas antagonis antara polifenol dengan sumber asam yang sengaja ditambahkan dalam produk tersebut.

Faktor lain yang tidak kalah berpengaruhnya kedalam produk minuman adalah kandungan gula. Mengingat semua produk yang dianalisis mempunyai rasa manis, diduga kandungan gula yang ada dalam minuman dapat mempengaruhi tinggi rendahnya aktivitas penangkapan terhadap radikal bebas DPPH.

## KESIMPULAN

Secara umum minuman teh mempunyai kemampuan penangkapan radikal bebas DPPH yang cukup baik. Hal ini bisa dilihat dari rendahnya nilai  $EC_{50}$  untuk produk minuman tersebut. Sebagian besar produk minuman mempunyai nilai  $EC_{50}$  dibawah 100  $\mu$ l/ml. Namun demikian, secara keseluruhan minuman teh T-AR merupakan minuman yang paling kuat aktivitas penangkapannya yang ditandai dengan rendahnya nilai  $EC_{50}$ -nya yaitu hanya 63,55  $\mu$ l/ml.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atoui, A. K., Mansuori, A., Boskou, G. and Epalas, P. 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.* 89: 27-36.
- Fujinami, Y., Tai, A., and Amamoto, I. 2001. Radical scavenging activity againsts 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl at ascorbic acid 2-glucoside (AA-2G). *Chem. Pharm. Bull.* 49(5): 642-644.
- Gall, G.I., Coquhoun, I.J., and Defernez, M. 2004. Metabolite profiling using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy for quality assessment of green tea, *Camellia sinensis* (L). *J. Agric. Food Chem.* 52: 692-700.
- Krishnan, R., and Maru, G.B. 2004. Inhibitory effect (s) of polymeric black tea polyphenols fractions on the formation of [3H]-B(a)-derived DNA adduct. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4261-4269.
- Kulisic, T., Uzelac, V.D., and Milos, M. 2006. Antioxidant activity of aqueous tea infusion prepared from oregano, thyme, and wild thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44(4): 485-492.
- Lu, Y., Guo, W.F., and Yang, X.Q. 2004. Fluoride content in tea and its relationship with tea quality. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4472-4476.
- Menent, M.R., Sang, S., Yang, C.S., Ho, C.T., and Roser, R.T. 2004. Analysis of Theaflavins and thearubigins from black tea extract by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2455-2461.
- Rio, D.D., Stewart, A.J. Mullen, W., Borns, J., Lean, M.E.J., Brighenti, F., and Crozier, A. 2004. HPLC-MS4 analysis of phenolic compounds and purine in green and black tea. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2807-2815.
- Rohdiana, D. 2004. Manufacturing of green tea effervescent tablet on Proceeding of The International Conference on O-Cha (Tea) Culture and Science. November 4-6, Shizuoka-Japan.
- Yen, G.C., and Chen, H.Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts it relationship to their anti-mutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43:27-32.
- Zhu, N., Wang, M., Wei, G.J., Lin, J.K., Yang, C.S., and Ho, C.T. 2001. Identification of reaction products of (-)-epigallocatechin, (-)-epogallocatechin gallate and pyrogallol with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Food Chem.* 73:345-349.