

## SIFAT PRO-OKSIDAN SARI JERUK NIPIS (*Citrus aurentifolia*) TERHADAP AKTIFITAS ANTIOKSIDAN TEH HIJAU(*Camellia sinensis*)

Sudjatini<sup>1</sup>

### ABSTRACT

The research was designed to understand the effect of addition of extract citrus on the antioxidative activity of green tea and to determine the optimum temperature at the process of green tea extraction to get the best antioxidative activity. Two treatment factors were arranged in completely randomized design with three replications. First treatment factor was the temperature extraction of green tea consisted of 30, 60 and 100 °C, whereas the second treatment factor was concentration of extract citrus consisted of 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 %. The contents of polyphenol, tannin, total acids were chemically determined, whereas antioxidative activity was determined by radical scavenging affect (RSA). Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and Duncan's Multiple Range Test (DMRT) if there was a significant difference in treatment effects. The research's results show that there was insignificant interaction between temperature extraction of green tea and concentration of added extract citrus. Eventhough concentration of extract citrus did not significantly affect the contents of polyphenol and tannin but it affected significantly the contents of total acids and antioxidative activity of extract tea. The antioxidative activity at the concentration of extract citrus of 0.2 % was significantly greater than without extract citrus (as check treatment). The following increase in concentration of extract citrus until 1 % did not significantly increase in antioxidative activity. The temperature of tea extraction affected significantly on the contents of polyphenol, tannin, total acids, and antioxidative activity of extract green tea. The highest values were obtained at 100 °C and the the lowest at 30 °C. Temperature extraction of green tea of 100 °C and the addition of 0.2 % extract citrus was the optimum condition. At this condition, the extract green tea contained polyphenol, tannin, total acids, and antioxidative activity as high as 13.77, 12.77, 0.69 and 93.37 %, respectively.

Key words: green tea, citrus, antioxidative activity

### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat pro-oksidan pada sari jeruk nipis terhadap aktifitas antioksidan teh hijau (*Camellia sinensis*). Penelitian ini menggunakan rancangan pola faktorial dengan 2 faktor perlakuan, pertama adalah suhu penyeduhan teh: 30, 60 dan 100°C; dan kedua adalah kadar sari jeruk nipis: 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0%. Analisis dilakukan terhadap kadar polifenol, tanin, total asam dan aktifitas antioksidan dengan uji RSA (*radical scavenging affect*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi antara suhu penyeduhan teh dengan kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan. Kadar sari jeruk nipis juga tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan polifenol dan tanin, namun berpengaruh nyata terhadap total asam dan aktifitas antioksidan teh. Dengan kadar sari jeruk nipis 0,2 %, aktifitas antioksidan berbeda nyata dengan kontrol (0,0%), namun dengan kadar makin tinggi aktifitas antioksidan tidak berbeda nyata. Suhu penyeduhan berpengaruh sangat nyata terhadap kandungan polifenol, tanin, total asam dan aktifitas antioksidan seduhan teh hijau, yaitu tertinggi didapatkan pada suhu penyeduhan teh 100°C dan terendah pada suhu penyeduhan 30°C. Kondisi penyeduhan teh hijau yang optimum adalah pada suhu 100°C dan penambahan sari jeruk nipis 0,2 %, yaitu seduhan teh dengan kandungan polifenol 13,77%, tanin 12,77%, total asam 0,69% dan aktifitas antioksidan 93,37%.

Key word: teh hijau, jeruk nipis, pro-oksidan.

### PENDAHULUAN

Teh diolah dari pucuk daun teh segar (*Camellia sinensis*) dan berdasarkan proses pengolahannya, teh dikenal menjadi 3 jenis yaitu teh hijau, teh hitam dan teh oolong. Menurut Hartoyo (2003), masyarakat Indonesia lebih

banyak mengkonsumsi teh hitam dibanding teh hijau. Padahal teh hijau memiliki khasiat yang lebih baik bagi kesehatan dibanding teh hitam. Penelitian yang dilakukan di Jepang membuktikan adanya hubungan antara kebiasaan minum teh hijau dengan rendahnya tingkat kematian yang

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Widya Mataram Yogyakarta  
✉sudjatini@gmail.com

disebabkan penyakit kanker (Kuroda dan Hara, 1999).

Teh berpengaruh baik bagi kesehatan karena mengandung senyawa polifenol. Beberapa peneliti melaporkan bahwa adanya kandungan senyawa polifenol di dalam teh, menyebabkan teh mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi. Senyawa polifenol mempunyai peranan dalam meredam aktifitas radikal bebas sehingga bermanfaat bagi pencegahan beberapa penyakit, misalnya penyakit jantung koroner dan kanker (Lin *et al*, 1996). Di dalam penyajian sebagai minuman, seduhan teh sering ditambah dengan bahan-bahan lain seperti madu, ekstrak jahe atau sari jeruk nipis. Hal tersebut selain dimaksudkan untuk menambah kesegaran dan variasi rasa dari minuman teh diharapkan pula dapat meningkatkan khasiat teh. Selama penyeduhan teh akan terjadi proses ekstraksi yaitu terlarutnya beberapa senyawa yang terkandung di dalam teh, terutama senyawa polifenol (Anonim, 2006).

Seduhan teh mempunyai rasa sepet dan berwarna kuning kecoklatan, hal ini disebabkan oleh senyawa tanin. Penambahan sari jeruk nipis pada seduhan teh menyebabkan warna seduhan yang semula kuning kecoklatan berubah menjadi lebih terang dan rasanya agak asam. Menurut Tranggono (1991), buah jeruk nipis banyak mengandung asam-asam organik, yang terdiri dari asam sitrat dan asam askorbat. Kedua jenis asam tersebut mempunyai sifat sebagai antioksidan. Raharjo (1996) mengatakan bahwa antioksidan adalah senyawa yang dapat digunakan untuk mencegah bahan pangan dari kerusakan, ketengikan dan perubahan warna akibat proses oksidasi.

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 nipis ke dalam seduhan teh yang telah siap minum sehingga akan didapatkan rasa dan warna seperti yang diinginkan. Namun sampai saat ini belum pernah diteliti pengaruh penambahan sari jeruk nipis pada seduhan teh terhadap perubahan

polifenol dan aktifitas antioksidannya. Dalam penelitian ini, akan dikaji seberapa besar perubahan kandungan polifenol dan aktifitas antioksidan dari teh hijau dengan adanya penambahan sari jeruk nipis dan pengaruh suhu penyeduhan, sehingga dapat diketahui pula manfaatnya dan khasiat teh hijau bagi kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyeduhan dan penambahan sari jeruk nipis terhadap perubahan polifenol dan aktifitas antioksidan dari teh hijau, sehingga dapat diketahui kondisi optimum penyeduhan teh hijau dengan penambahan sari jeruk nipis.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah teh hijau yang diperoleh dari PT. Pagilaran Yogyakarta, dan jeruk nipis diperoleh di pasar Ngasem Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol, metanol, pereaksi folin-ciocalteau, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, asam galat, DPPH (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), protein BSA (bovine serum albumin), buffer, SDS-trietanolamin, FeCl<sub>3</sub>, dan asam tanat.

### **Proses penyeduhan**

Teh hijau dihaluskan dengan blender untuk menyeragamkan ukuran. Sebanyak 1 gram teh hijau diseduh dengan air aquades (100 ml) dengan perlakuan suhu 30°C, 60°C, dan 100°C masing-masing perlakuan selama 10 menit. Hasil seduhan dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditambahkan sari jeruk nipis dengan kadar 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, dan 1,0%. Seduhan teh kemudian dianalisa kandungan polifenol, tanin, total asam, dan aktifitas antioksidan.

### **Kandungan total polifenol**

Total polifenol dari teh hijau dianalisa dengan menggunakan folin-ciocalteau (Andarwulan, 1999) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 0,1 ml filtrat hasil penyeduhan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian 1 ml etanol dan 5 ml air aquades ditambahkan. Kemudian sebanyak 0,5 ml reagen folin-ciocalteau (50%) ditambahkan ke dalam campuran dan dihomogenkan dengan vortek.

Reaksi campuran didiamkan di tempat gelap selama 60 menit, kemudian dihomogenkan dengan vortek sebelum diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 725 nm. Kurva standar dibuat dengan cara yang sama dengan mengganti sampel dengan asam galat. Kandungan total polifenol dalam seduhan teh hijau dinyatakan sebagai ppm.

### Kandungan tanin

Kandungan tanin dianalisis menggunakan metode protein precipitation (Sari, 2001). Sebanyak 1,5 ml filtrat teh hijau hasil penyeduhan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse, kemudian ditambahkan 2 ml larutan protein (bovine serum albumin di dalam buffer asetat). Setelah itu divortek dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian campuran disentrifuse untuk memisahkan supernatan dan endapan. Supernatan dibuang dan endapan dicuci perlahan dengan buffer asetat, kemudian 4 ml larutan SDS-trietanolamin ditambahkan dan selanjutnya divortek hingga endapan larut semua. Sebanyak 1 ml larutan FeCl<sub>3</sub> ditambahkan dan divortek lalu didiamkan selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm. Kurva standar dibuat dengan cara yang sama dengan menggunakan asam tanat. Kandungan tanin dalam teh hijau dinyatakan dalam ppm.

### Total asam

Analisa total asam dalam seduhan the hijau menunjukkan kandungan asam sitrat dan asam askorbat dalam bahan (AOAC, 1970 dalam Sudarmadji dkk, 1984). Sebanyak 10 ml filtrat seduhan the hijau diencerkan menjadi 100 ml, kemudian diambil 25 ml masukkan tabung reaksi dan ditambahkan ke dalamnya 5 tetes indikator phenolptaline (pp) lalu campuran dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai tidak berwarna atau warna merah muda tidak hilang selama 3 detik. Total asam dinyatakan dalam %.

### Aktifitas antioksidan

Aktifitas antioksidan dalam seduhan teh hijau dianalisa berdasarkan kemampuan dari senyawa polifenol untuk menangkap radikal (*radical scavenging activity*) DPPH (*1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) (Yamaguchi et al.,

1998). Sebanyak 0,1 ml filtrat seduhan teh hijau dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan DPPH 400  $\mu$  M. Campuran ditera dengan etanol sampai 5 ml dan dihomogenkan dengan menggunakan vortek. Setelah itu didiamkan selama 20 menit dan kemudian diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Aktifitas antioksidan dinyatakan dalam %.

### Analisa data

Pengolahan data dilakukan menggunakan ANOVA dan apabila ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan metode DMRT.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis yang dilakukan terhadap seduhan teh hijau dan sari jeruk nipis disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa seduhan teh hijau dengan suhu 30 °C didapatkan kadar polifenol, kadar tanin, total asam dan RSA atau aktifitas antioksidan yang terendah, sedangkan seduhan teh hijau dengan suhu 100 °C didapatkan hasil yang tertinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada suhu penyeduhan teh hijau yang semakin tinggi, komponen polifenol, tanin, asam-asam organik akan lebih banyak yang terekstrak, demikian pula dengan aktifitas antioksidannya juga semakin besar pada suhu yang semakin tinggi. Dalam sari jeruk nipis, kandungan polifenol dan tanin sangat rendah, namun total asamnya cukup tinggi.

Tabel 1. Hasil analisis kimia terhadap seduhan teh hijau dan sari jeruk nipis

Bahan dasar	Kadar polifenol (ppm)	Kadar tanin (ppm)	Total asam (%)	Aktifitas antioksidan (%)
Seduhan teh	675,16-1337,66	606,85-1276,64	0,26-0,36	89,12-91,05
Sari jeruk nipis	6,62	5,14	7,52	81,17

Keterangan : angka merupakan hasil analisis dari tiga kali ulangan

Nilai RSA pada sari jeruk nipis menunjukkan hasil yang cukup tinggi, hal ini menunjukkan bahwa aktifitas antioksidan sari jeruk nipis yang mengandung asam sitrat dan

asam askorbat adalah cukup tinggi pula. Menurut Raharjo (1996), asam sitrat dan asam askorbat termasuk kelompok antioksidan yang masing-masing memiliki peran yang berlainan. Asam sitrat berfungsi sebagai *chelators/ sequestrants*, yang berfungsi mengikat logam yang mampu mengkatalisa reaksi oksidasi; sedangkan asam askorbat berperan sebagai *oxygenscavanger*, yang berfungsi mengikat oksigensehingga tidak mendukung reaksi oksidasi.

Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan, di dalam seduhan teh hijau yang digunakan pada penelitian ini mengandung komponen polifenol, tanin dan total asam yang semakin besar dengan semakin tingginya suhu penyeduhan teh hijau. Demikian pula aktifitas antioksidan dari seduhan teh hijau yang diukur menggunakan DPPH (*1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) sebagai radikal bebas semakin besar nilainya dengan semakin tinggi suhu penyeduhan teh hijau, yaitu berkisar antara 89,12–91,05 %. Pada suhu penyeduhan 100 °C selama 10 menit didapatkan aktifitas antioksidan tertinggi dan aktifitas antioksidan terendah pada kondisi penyeduhan pada suhu 30 °C selama 10 menit. Dalam hal ini aktifitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan antioksidan dari polifenol dalam teh hijau dan asam-asam organik (asam sitrat dan asam askorbat) dari sari jeruk nipis untuk mendonorkan atom hidrogennya ke radikal bebas DPPH.

Peningkatan aktifitas antioksidan tersebut seiring dengan meningkatnya suhu penyeduhan terkait dengan meningkatnya kandungan senyawa polifenol dan tanin teh yang terdapat di dalam seduhan teh hijau (Lin et al., 1996). Bravo (1998), bahwa aktifitas antioksidan berhubungan dengan kandungan gugus hidroksil polifenol yang mampu menyumbangkan atom hidrogen ke radikal bebas untuk menetralkan sifat radikalnya. Menurut Hartoyo (2003), fenol jenis epigallokatekin galat (EGCG) yang merupakan penyusun terbesar pada teh hijau mempunyai aktifitas antioksidan paling tinggi diantara jenis fenol lainnya. Hal ini juga didukung oleh Lin et al. (1996); Yen dan Chen (1995), yang mengemukakan bahwa aktifitas antioksidan ekstrak teh mempunyai hubungan yang baik dengan kandungan EGCG dalam teh.

Di dalam sari jeruk nipis juga terdapat polifenol dan tanin meskipun kadarnya rendah, namun kandungan asamnya tinggi. Menurut Rukmana (2003), di dalam jeruk nipis mengandung vitamin C dan asam sitrat yang cukup tinggi dan Raharjo (1996) mengatakan bahwa vitamin C dan asam sitrat merupakan antioksidan yang baik. Dari hasil analisis, ternyata aktifitas antioksidan dari sari jeruk nipis cukup tinggi, yaitu sebesar 81,17 %. Hal ini berkaitan dengan kandungan asam sitrat dan asam askorbat yang ditunjukkan dalam total asam yang tinggi pada sari jeruk nipis tersebut.

### **Kandungan total polifenol**

Hasil analisis kandungan total polifenol seduhan teh hijau pada berbagai suhu penyeduhan dan penambahan sari jeruk nipis menunjukkan hasil antara 695,92 ppm atau 6,96 % sampai 1.377,34 ppm atau 13,77 %. Kandungan total polifenol tertinggi diperoleh pada suhu penyeduhan 100 °C sebesar 13,77 %. Sedangkan kandungan total polifenol terendah diperoleh pada kondisi suhu penyeduhan 30 °C sebesar 6,96 %.

Kadar polifenol seduhan teh hijau pada berbagai suhu dan penambahan sari jeruk nipis disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan sari jeruk nipis ke dalam seduhan teh tidak berpengaruh nyata terhadap kadar polifenol. Selain itu didapatkan bahwa tidak ada interaksi antara masing-masing perlakuan yaitu suhu penyeduhan teh hijau dan kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan. Namun demikian, suhu penyeduhan teh hijau berpengaruh sangat nyata terhadap kadar polifenol seduhan teh. Semakin tinggi suhu penyeduhan, kadar polifenol teh hijau semakin besar. Hal ini disebabkan semakin banyak senyawa polifenol yang terekstrak atau terlarut oleh air pada suhu yang semakin tinggi. Kandungan total polifenol hasil penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Wicremasinghe (1978), yang menyebutkan kandungan Polifenol pada teh hijau sekitar 100-200 mg/g atau 10-20 %. Sedangkan Bravo (1998) melaporkan bahwa kandungan polifenol dalam teh hijau sebesar 20-35 % (berat daun kering). Nilai tersebut lebih besar dibandingkan dengan nilai kandungan polifenol dari hasil penelitian yang dilakukan.

Tabel 2. Hasil analisis kadar polifenol, kadar tanin, total asam, dan aktifitas antioksidan (RSA) seduhan teh hijau pada berbagai suhu penyeduhan.

Suhu penyeduhan (°C)	Kadar polifenol (ppm)	Kadar Tanin (ppm)	Total asam (%)	Aktifitas antioksidan (%)
30	695,92 a	606,85 a	0,55 a	92,02 a
60	1.004,84 b	1.004,50 b	0,62 b	92,36 ab
100	1.377,34 c	1.276,64 c	0,69 c	93,37b

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya beda yang nyata pada taraf signifikansi 5%.

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu maka semakin besar polifenol yang terlarut dalam seduhan teh hijau. Peningkatan kandungan polifenol dalam seduhan teh hijau terjadi karena senyawa polifenol yang berada di dalam vakuola jaringan sel daun dengan adanya pemanasan menyebabkan vakuola akan membuka sehingga memudahkan senyawa polifenol keluar dari sel (Fatimah, 1993). Peningkatan kandungan total polifenol juga disebabkan oleh sifat dari polifenol yang mudah larut dalam air. Menurut Chang et al. (2000), polifenol mempunyai sifat mudah larut dalam air, sehingga semakin tinggi suhu penyeduhan akan meningkatkan kandungan polifenol dalam seduhan teh.

### Kadar tanin

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan sari jeruk nipis ke dalam seduhan teh hijau tidak berpengaruh nyata terhadap kadar tanin seduhan teh, selain itu juga tidak ada interaksi antara masing-masing perlakuan yaitu suhu penyeduhan dan kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan. Namun demikian, suhu penyeduhan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar tanin seduhan teh hijau. Semakin tinggi suhu penyeduhan, kadar tanin teh hijau semakin besar (Tabel 2). Hal ini disebabkan semakin banyak senyawa tanin yang terekstrak atau terlarut oleh air pada suhu yang semakin tinggi. Seperti halnya dengan kandungan polifenol, kandungan tanin tertinggi juga diperoleh pada suhu penyeduhan

100 °C yaitu sebesar 1.276,64 ppm atau 12,77 % dan kandungan tanin terendah diperoleh pada proses penyeduhan pada suhu 30 °C yaitu sebesar 606,85 ppm atau 6,07 %. Menurut Hartoyo (2003), kandungan tanin dalam teh hijau akan menyebabkan rasa seduhan teh agak sepat/astringency.

Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu penyeduhan maka semakin tinggi pula tanin yang terlarut. Kandungan tanin dalam seduhan teh hijau memperlihatkan kecenderungan peningkatan yang sama dengan kandungan total polifenol. Hal tersebut disebabkan karena tanin yang termasuk dalam grup polifenol juga memiliki sifat mudah larut dalam air (Bravo, 1998; Chang et al., 2000).

Tanin pada umumnya merupakan bentuk polimer dari katekin yang mempunyai sifat mudah terurai atau terdekomposisi dengan adanya panas. Pada penelitian yang dilakukan dengan suhu penyeduhan teh hijau tertinggi pada suhu 100 °C menunjukkan kandungan tanin yang semakin tinggi dibandingkan dengan suhu penyeduhan yang lebih rendah. Hal ini memperlihatkan bahwa perlakuan penyeduhan pada suhu 100 °C belum mampu menguraikan (dekomposisi) tanin yang terlarut dalam seduhan teh hijau.

### Total asam

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara masing-masing perlakuan yaitu suhu penyeduhan teh hijau dan kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan terhadap total asam dalam seduhan teh hijau. Namun, suhu penyeduhan berpengaruh sangat nyata terhadap total asam pada seduhan teh hijau, demikian pula penambahan sari jeruk nipis ke dalam seduhan teh hijau berpengaruh sangat nyata terhadap total asam pada seduhan teh hijau. Semakin tinggi suhu penyeduhan, total asam pada seduhan teh hijau semakin besar (Tabel 2). Hal ini disebabkan semakin banyak asam askorbat pada teh hijau yang terekstrak atau terlarut oleh air pada suhu yang semakin tinggi. Demikian pula dengan semakin tinggi kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan, maka total asam pada seduhan teh juga semakin besar, seperti ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis total asam pada seduhan teh hijau pada berbagai kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan (%)

Kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan dalam seduhan teh hijau (%)	Total asam seduhan teh hijau dengan penambahan sari jeruk nipis (%)
0,0	0,31 a
0,2	0,46 b
0,4	0,54 c
0,6	0,67 d
0,8	0,80 e
1,0	0,95 f

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya beda yang nyata pada taraf signifikansi 5%.

### Aktifitas antioksidan

Antioksidan berperan menghambat oksidasi melalui berbagai mekanisme yaitu antara lain mengendalikan substrat (oksigen dan lipida), mengendalikan prooksidan (senyawa oksigen yang reaktif dan logam katalis), dan pengendalian radikal bebas. Namun demikian suatu antioksidan bisa memiliki lebih dari satu mekanisme antioksidasi dalam menghambat oksidasi lemak (Raharjo, 2004). Demikian pula terdapat efek sinergistik antara beberapa senyawa yang digunakan secara bersamaan sebagai antioksidan. Dengan penggunaan kombinasi dari beberapa jenis antioksidan tersebut diduga dapat memberikan efek sinergistik sehingga aktifitas antioksidan menjadi semakin kuat dalam menghambat oksidasi.

Pengukuran aktifitas antioksidan seduhan teh hijau pada berbagai suhu penyeduhan dan penambahan sari jeruk nipis dilakukan dengan menggunakan DPPH (*1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yang bertindak sebagai radikal bebas. Besarnya aktifitas antioksidan diukur berdasarkan pada kemampuan dari antioksidan polifenol dalam seduhan teh hijau untuk mendonorkan atom hidrogennya ke radikal bebas DPPH dengan atau tanpa penambahan sari jeruk nipis yang banyak mengandung asam sitrat dan asam askorbat yang juga berfungsi sebagai antioksidan.

Besarnya nilai RSA (*radical scavenging affect*) adalah menunjukkan besarnya aktifitas antioksidan dari seduhan teh hijau pada berbagai suhu penyeduhan dan penambahan sari jeruk nipis. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara masing-masing perlakuan yaitu suhu penyeduhan teh hijau dan kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan terhadap aktifitas antioksidan seduhan teh hijau. Namun demikian, suhu penyeduhan teh hijau berpengaruh sangat nyata terhadap aktifitas antioksidan pada seduhan teh hijau. Semakin tinggi suhu penyeduhan, aktifitas antioksidan pada seduhan teh hijau semakin besar (Tabel 2). Hal ini disebabkan semakin banyak senyawa polifenol pada teh hijau yang terekstrak atau terlarut oleh air pada suhu yang semakin tinggi.

Tabel 4. Hasil analisis RSA (aktifitas antioksidan) seduhan teh hijau pada berbagai kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan (%)

Kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan dalam seduhan teh hijau (%)	Nilai RSA pada seduhan teh hijau dengan penambahan sari jeruk nipis (%)
0,0	90,42 a
0,2	92,24 b
0,4	92,40 b
0,6	93,34 b
0,8	93,37 b
1,0	93,74 b

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya beda yang nyata pada taraf signifikansi 5%.

Penambahan sari jeruk nipis ke dalam seduhan teh hijau berpengaruh sangat nyata terhadap aktifitas antioksidannya. Semakin tinggi kadar sari jeruk nipis yang ditambahkan, total asam pada seduhan teh juga semakin besar, demikian pula dengan aktifitas antioksidan dari seduhan teh hijau menjadi semakin besar pula (Tabel 4).

Dari hasil pengamatan diperoleh aktifitas antioksidan seduhan teh hijau pada berbagai suhu berkisar antara 92,02 % sampai 93,37 %. Aktifitas

antioksidan seduhan teh hijau meningkat dengan semakin meningkatnya suhu penyeduhan. Pada penyeduhan suhu 100°C didapatkan aktifitas antioksidan tertinggi, dan aktifitas antioksidan terendah pada suhu penyeduhan 30 °C.

Peningkatan aktifitas antioksidan dengan meningkatnya suhu penyeduhan adalah berkaitan dengan meningkatnya kandungan senyawa polifenol. Sebagaimana laporan Lin et al. (1996); Bravo (1998), bahwa senyawa polifenol berperan sebagai senyawa antioksidan. Menurut Bravo (1998), kemampuan atau aktifitas antioksidan berhubungan dengan kandungan gugus hidroksil polifenol yang mampu menyumbangkan atom hidrogen ke radikal bebas untuk menetralkan sifat radikalnya. Menurut Hartoyo (2003), fenol jenis epigallocatekin galat (EGCG) yang merupakan penyusun terbesar pada teh hijau mempunyai aktifitas antioksidan paling tinggi diantara jenis fenol lainnya. Hal ini juga didukung oleh Lin et al. (1996); Yen dan Chen (1995), yang mengemukakan bahwa aktifitas antioksidan ekstrak teh mempunyai hubungan yang baik dengan kandungan EGCG dalam teh.

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa penambahan sari jeruk nipis dalam seduhan teh hijau dapat meningkatkan aktifitas antioksidan dan berbeda nyata dibandingkan tanpa penambahan (kontrol). Namun demikian secara statistik tidak terjadi peningkatan aktifitas antioksidan seduhan teh hijau dengan semakin meningkatnya kadar penambahan sari jeruk nipis. Menurut Raharjo (2004), asam sitrat berperan sebagai *sequestrants/chelators* yaitu antioksidan yang mampu mengikat logam yang mengkatalisa reaksi oksidasi; sedangkan asam askorbat /vitamin C berperan sebagai *oxygen scavenger* yang berfungsi mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi dalam bahan (Raharjo, 1996). Berdasarkan sifat asam sitrat dan asam askorbat tersebut dan hasil penelitian yang didapatkan dapat diduga bahwa terjadi sinergis antara asam-asam dalam sari jeruk nipis tersebut dengan polifenol dalam teh hijau.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan suhu penyeduhan akan meningkatkan kandungan total polifenol dan

tanin dalam seduhan teh hijau. Peningkatan kandungan polifenol tersebut akan mengakibatkan meningkatnya aktifitas antioksidan dalam seduhan teh hijau. Penambahan sari jeruk nipis ke dalam seduhan teh hijau minimal 0,2 % dapat meningkatkan aktifitas antioksidan seduhan teh hijau.

Kondisi optimum penyeduhan teh hijau yaitu pada suhu 100 °C dan dengan ditambahkan sari jeruk nipis dapat diperoleh kandungan total polifenol 1337,34 ppm (13,37 %), kandungan tanin 1276,64 ppm (12,77 %), dan aktifitas antioksidan sebesar 93,37 %.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., D. Fardiaz, GA. Wattimena, dan K. Shetty. 1999. *Antioxidant Activity Associated with Lipid and Phenolic Mobilization during Seed Germination of Pangium edule Reinw.* J. Agric. Food Chem., 47, 3158-3163.
- Anonim, 2006. *Teh Bukan Sekedar Pelepas Dahaga: Air dan Minuman.* Kompas Maret 2006, hal. 38 (1-7)
- Bravo, L. 1998. *Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance.* Nutrition Reviews, 56, 317-333.
- Chang, JC, K. Chiu, Y. Chen, dan C. Chang. 2000. *Separation of Catechins from Green Tea Using Carbon Dioxide Extraction.* Food Chemistry, 68, 109-113.
- Fatimah, T. 1993. *Budidaya Tanaman Teh (Camellia sinensis (L) O.Kuntze).* Politeknik Pertanian, Universitas Jember, Jember.
- Hartoyo, A. 2003. *Teh & Khasiatnya bagi Kesehatan: Sebuah Tinjauan Ilmiah.* Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Kuroda, Y. dan Y. Hara. 1999. *Antumutagenic and Anticarcinogenic Activity of Tea Polyphenols.* Mutation Research. 436, 69-97.
- Lin, YL., IM. Juan, YL. Chen, YC. Liang, and JK. Lin. 1996. *Composition of Poliphenols in Fresh Tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in Fibroblast*

- cells. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1387-1394.
- Omura, K. 1995. *Antioxidant Synergism Between Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene*. *JAOCS*, Vol. 72, No.12: 1565-1570.
- Price, WE and JC. Spitzer. 1993. *The temperature dependence of the rate of extraction of soluble constituents of black tea*. *J. Food Chem.* 46: 133-136.
- Raharjo, S. 1996. *Antioksidan dalam Makanan dan Minuman Fungsional*. Kursus Singkat Makanan Fungsional. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Raharjo, S. 2004. *Kerusakan Oksidatif pada Makanan*. Pusat Studi Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Rukmana, R. 2003. *Jeruk Nipis. Prospek Agribisnis, Budidaya, dan Pascapanen*. Kanisius, Yogyakarta.
- Sari, P. 2001. *Studies on antioxidative properties of cocoa beans*. Tesis Master. Osaka Prefecture University, Japan.
- Wicremasinghe, RL. 1978. *Extraction Polyphenols of Green Tea*. *Adv. Food Res.* 24, 229.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1984. *Prosedur analisa untuk bahan makanan dan pertanian*. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Wang, ZY., MT. Huang, YR. Lou, JG. Lie, HL. Reuhl, CT. Newmark, CS. Yang, AH. Conney. 1998. *Inhibitory Effects of Black Tea, Green Tea, Decaffeinated Black Tea and Decaffeinated Green Tea on Ultraviolet B Light-induced Skin Carcinogenesis in Mice*. *Cancer Res.*, 54, 3428-3435.
- Yamaguchi, T., H. Takamura, T. Matoba, and J. Terao. 1998. *HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of food by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62, 1201-1204.
- Yen, GC and HY. Chen. 1995. *Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity*. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-32.