

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh merupakan jenis minuman yang sangat populer di dunia. Teh juga merupakan salah satu produk utama hasil pertanian dan komoditas ekspor di Indonesia (Kosugi., 2019). Teh hijau merupakan salah satu jenis teh yang terkenal dan banyak memiliki khasiat karena memiliki kandungan antioksidan paling besar dibandingkan jenis teh yang lain. Teh hijau banyak dikonsumsi oleh penduduk Asia. Cina merupakan negara yang paling banyak mengonsumsi teh hijau dengan jumlah sekitar 300.000 ton/tahun dan Jepang merupakan negara kedua yang juga banyak mengonsumsi teh hijau sebanyak 80.000 ton/tahun. Indonesia menduduki peringkat ketiga terbanyak dalam mengonsumsi teh hijau yaitu sekitar 30,000 ton teh hijau setiap tahunnya (Kosugi., 2019)

Teh hijau merupakan jenis minuman yang berasal dari daun *Camelia sinensis*. Dalam pengolahannya, teh hijau diperoleh dari daun teh yang diproses melalui pelayuan, pengukusan dan penggulangan, namun tanpa melalui proses fermentasi (Kosińska & Andlauer., 2014). Teh hijau memiliki daya antioksidan sebesar 13,51 µg/ml dalam konsentrasi DPPH 20 mg/ml (Pereira *et al.*, 2014). Teh hijau mengandung berbagai macam senyawa seperti polifenol, asam organik, asam amino, metilsantin, karbohidrat, mineral, senyawa *volatile* dan vitamin. Polifenol merupakan kandungan paling besar dibandingkan kandungan yang lain. Polifenol terdiri dari katekin 30-40%, Flavonols 5-10% dan grup ester (*depside*) sebesar 2-4%. Katekin merupakan jenis antioksidan pada teh hijau yang terdiri dari beberapa jenis seperti EC, ECG, EGC dan EGCG (Rady *et al.*, 2018).

EGCG atau *epigallocatechin-3 gallat* merupakan salah satu jenis katekin yang terkandung paling banyak dalam teh hijau. Berdasarkan penelitian sebelumnya, EGCG

yang terkandung dalam teh hijau sebesar 59% dari total katekin (Rady *et al.*, 2018). EGCG memiliki daya antioksidan paling besar dibandingkan dengan jenis katekin lainnya. % penghambat dari EGCG sebesar $73,7\% \pm 1,2$ pada kadar EGCG $5 \mu\text{g/ml}$ (Wu *et al.*, 2011). EGCG memiliki daya antioksidan yang sangat tinggi, sehingga banyak penelitian yang menggunakan zat aktif EGCG sebagai zat antikanker (Rady *et al.*, 2018), mencegah penyakit jantung, diabetes dan obesitas (Granja *et al.*, 2017). Salah satu kelemahan EGCG yaitu sangat tidak stabil terutama dalam bentuk larutan atau seduhan. Rendahnya stabilitas EGCG dalam seduhan teh hijau dibuktikan oleh beberapa penelitian.

Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa kandungan EGCG pada produk teh siap minum jauh lebih kecil dibandingkan dengan produk teh celup. Pada penelitian Mendes tahun 2012 menyebutkan bahwa konsentrasi EGCG pada teh *sachet* (dibeli dari pasar di Brasilia) sebanyak $1,69 \pm 0,84$ mg sedangkan pada teh siap minum (dibeli dari pasar di Brasilia) kadar EGCG sebesar $0,15 \pm 0,00$ mg. Pada penelitian lainnya juga menjelaskan bahwa kadar EGCG pada teh celup dan teh siap minum (dibeli dari supermarket dikota Sao Paulo) berturut-turut yaitu ± 70 mg/200 ml dan ± 30 mg/200 ml (Kodama *et al.*, 2010). Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan EGCG dalam seduhan teh hijau akan semakin menurun dalam waktu penyimpanan. Oleh sebab itu kandungan EGCG dalam seduhan teh hijau harus dipertahankan kestabilannya agar tidak mudah terdegradasi membentuk senyawa lain seperti GCG dan theasinensin A (Krupkova *et al.*, 2016). Sehingga perlu dilakukan stabilitas EGCG pada seduhan teh hijau agar memiliki manfaat yang lebih maksimal untuk kesehatan masyarakat.

EGCG dapat terdegradasi menjadi senyawa lain. EGCG mudah mengalami auto-oksidasi membentuk Theasinensin A dan mudah mengalami epimerasi membentuk GCG. Theasinensin A terbentuk akibat terlepasnya H^+ pada gugus hidroksil sehingga terbentuk EGCG radikal, kemudian membentuk EGCG quinon. EGCG quinon bereaksi dengan

EGCG lain, sehingga membentuk dimer EGCG atau theasinensin A (Sang *et al.*, 2011). Kestabilan EGCG dan daya antioksidan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu dan pH penyimpanan, konsentrasi EGCG pada sampel, penambahan senyawa antioksidan (Krupkova *et al.*, 2016) dan jenis wadah penyimpanan (Zeng *et al.*, 2018)

EGCG mudah terdegradasi pada suhu tinggi. Ada beberapa penelitian tentang kondisi stabilitas EGCG. Penelitian Krupkova (2016) dan Wang (2009) menjelaskan bahwa EGCG lebih stabil pada suhu penyimpanan 44°C. Larutan EGCG paling stabil jika disimpan pada suhu 4°C (Zeng *et al.*, 2018 dan Krupkova *et al.*, 2016). Berdasarkan kondisi lapangan, penyimpanan teh hijau pada suhu 4°C lebih memungkinkan dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu 44°C. Sehingga pada penelitian ini digunakan suhu penyimpanan 4°C.

Jenis pH larutan dapat mempengaruhi stabilitas EGCG. Berdasarkan beberapa penelitian kondisi pH yang baik untuk stabilisasi EGCG yaitu pH antara 2-5,5 (Krupkova *et al.*, 2016), pH < 7 (Zeng *et al.*, 2017), pH sekitar 4 (Li *et al.*, 2012) dan pH < 3 (Saadeh *et al.*, 2009). Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa larutan EGCG 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 dan lama waktu penyimpanan.

Selain suhu dan pH penyimpanan, konsentrasi EGCG dalam teh juga mempengaruhi stabilitas EGCG. Semakin tinggi kadar EGCG maka akan semakin stabil. Untuk memperoleh kadar EGCG yang tinggi dalam larutan diperlukan metode penyeduhan teh hijau yang tepat. Ada beberapa metode yang digunakan penelitian dalam penyeduhan teh dengan menggunakan pelarut air. Metode ekstraksi statis, dinamis, ultrasonik dan konvensional. Kadar EGCG yang diperoleh melalui metode ekstraksi statis sebesar 0,021 mg/L; dinamis sebesar 0,046 mg/ml (Xu *et al.*, 2018); ultrasonik sebesar 0,39 mg/L

(Das & Eun., 2018) dan konvensional 0,153 mg/L (Ayyildiz *et al.*, 2018). Berdasarkan uraian tersebut, penyeduhan teh hijau pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi ultrasonic agar memperoleh kadar EGCG yang lebih tinggi. Pada penyeduhan teh hijau digunakan pelarut air karena aman untuk dikonsumsi.

Jenis wadah yang digunakan sebagai tempat penyimpanan juga mempengaruhi stabilitas EGCG karena jenis wadah mempengaruhi cahaya yang masuk pada seduhan teh. Pada penelitian (Zeng *et al.*, 2018) menyebutkan bahwa pada keadaan tanpa cahaya dan oksigen selama waktu 48 jam lebih stabil dibandingkan terkena cahaya. Berdasarkan uraian tersebut disimpulkan bahwa dengan menggunakan wadah penyimpanan gelap dan tertutup rapat akan diperoleh kestabilan EGCG yang lebih baik.

Faktor stabilitas EGCG seperti suhu penyimpanan, metode penyeduhan serta wadah penyimpanan teh hijau akan digunakan kondisi terbaik berdasarkan penelitian sebelumnya seperti yang telah dijelaskan diatas. Sedangkan penambahan vitamin C untuk meningkatkan stabilitas EGCG akan menjadi fokus pada penelitian ini. Kadar vitamin C yang akan ditambahkan dengan beberapa kadar.

Dari beberapa penelitian, penambahan vitamin C atau asam askorbat juga dapat menstabilkan kandungan EGCG. Vitamin C mempunyai beberapa elemen yang dapat meregenerasi EGCG yang terdegradasi. Struktur asam askorbat terdiri dari lakton dan dua enolic hidroksil serta alkohol primer dan alkohol sekunder. Struktur enolic hidroksil (enediol) merupakan bagian penting pada struktur asam askorbat sebagai antioksidan. Enediol dapat dioksidasi dengan mudah membentuk diketon (Jeanmonod *et al.*, 2018). Vitamin C dan EGCG akan mengalami efek sinergis. Efek sinergis terjadi karena adanya perbedaan dalam potensial reduksi dari berbagai antioksidan dari satu sistem yang sama. Potensial reduksi EGCG sebesar 430 mV dan vitamin C sebesar 282 mV. Efek sinergis

terjadi dimana ion H^+ yang terlepas dari vitamin C akan meregenerasi EGCG radikal menjadi EGCG non radikal (Dai *et al.*, 2008). Sehingga EGCG tidak terdegradasi membentuk senyawa dimer dan theasisnensin A. Vitamin C yang melepaskan H^+ kerana teroksidasi kemudian akan membentuk menjadi asam oksalat dan treonat (Truffault *et al.*, 2017).

Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa penambahan asam askorbat pada EGCG dapat meningkatkan kemampuan EGCG dalam menghambat sel kanker paru-paru dan dapat melindungi EGCG dari oksidasi (Li *et al.*, 2010). Pada penelitian lainnya, Scalia *et al* tahun 2013 menyebutkan bahwa % fotodegradasi EGCG lebih besar dibandingkan dengan % fotodegradasi EGCG dengan tambahan asam askorbat. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan vitamin C dengan variasi penambahan kadar untuk meningkatkan stabilitas EGCG dan aktivitas antioksidan pada seduhan teh hijau. Kadar vitamin C yang ditambahkan pada penelitian ini yaitu 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg dan 3 mg. Sehingga diharapkan dengan kondisi suhu, cara ekstraksi penyeduhan dan wadah penyimpanan serta penambahan vitamin C yang dilakukan pada penelitian ini akan menstabilkan kadar EGCG dan aktivitas antioksidan pada seduhan teh hijau.

Ada beberapa metode yang digunakan untuk menentukan kadar EGCG seperti metode HPLC-UV (Fangueiro *et al.*, 2014) dan KLT-Densitometri (Abd-elsalam *et al.*, 2014). Metode HPLC mempunyai beberapa kelebihan seperti % recovery sangat baik yaitu sekitar 99-104%, dapat mengukur langsung beberapa senyawa antioksidan yang terkandung dalam teh hijau secara simultan. Namun metode HPLC membutuhkan pelarut dan fase gerak dengan kemurnian tinggi (*grade* HPLC) dan membutuhkan waktu analisis cukup lama yaitu sekitar 15 menit setiap satu sampel analisis. Sedangkan pada metode KLT-Densitometri bisa menggunakan pelarut dan fase gerak pro analisi, teknik pengerjaan lebih mudah, waktu analisis yang dibutuhkan lebih cepat karena dapat menganalisis

beberapa sampel secara bersama serta lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan HPLC. Berdasarkan penjelasan diatas, analisis kadar EGCG pada penelitian ini akan digunakan metode KLT-Densitometri

Secara teori semakin tinggi kadar EGCG maka daya antioksidannya juga semakin tinggi, namun ada beberapa penelitian yang menjelaskan bahwa tingginya kadar EGCG dalam teh hijau tidak menunjukkan daya antioksidan teh hijau juga tinggi, begitupula sebaliknya (Biesaga *et al.*, 2012). Sehingga daya antioksidan teh hijau setelah penambahan vitamin C juga perlu dianalisis.

Metode uji aktivitas antioksidan dilakukan pada seduhan teh hijau, vitamin C dan teh hijau yang telah ditambahkan dengan vitamin C. Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan yaitu DPPH (Alam & Bristi., 2013), FRAP atau *Ferric Reducing Antioksidan Power* (Rock & Brunswick., 2005), TPC atau *Total Phenolic Content* dan DPPH-HPLC (Kumara *et al.*, 2018). Dari beberapa metode tersebut, metode DPPH dipilih pada penelitian ini karena lebih efisien dan sesuai dengan analit yang dianalisis.

Berdasarkan penjelasan diatas, pada penelitian akan dilakukan upaya peningkatan stabilitas EGCG dengan penambahan variasi kadar vitamin C sebesar 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg, dan 3 mg pada seduhan teh hijau dengan menggunakan metode penyeduhan ekstraksi ultrasonik, penyimpanan sebesar 4°C dan menggunakan botol gelap dan tertutup rapat sebagai wadah penyimpanan. Metode KLT-Densitometri dipilih untuk analisis kadar EGCG. Metode DPPH dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dipilih untuk analisis aktivitas antioksidan. Analiss kadar EGCG dan aktivitas antioksidan diukur pada waktu penyimpanan 0 hari, 1 hari, 2 hari, 3 hari dan 4 hari. Dengan mengetahui kadar EGCG dan aktivitas antioksidan pada sampel teh hijau sebelum dan

sesudah ditambah vitamin C, maka akan diketahui % penurunan kadar EGCG dan % kenaikan aktivitas antioksidan seduhan teh hijau selama penyimpanan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah vitamin C mencegah penurunan kadar EGCG pada seduhan teh hijau selama waktu penyimpanan 4 hari?
2. Berapa persen penurunan kadar EGCG sebelum dan setelah penambahan vitamin C selama waktu penyimpanan 4 hari?
3. Apakah vitamin C mencegah kenaikan aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada seduhan teh hijau selama waktu penyimpanan 4 hari?
4. Berapa persen penurunan IC_{50} sebelum dan setelah penambahan vitamin C selama waktu penyimpanan 4 hari?

1.3 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini diharapkan agar masyarakat yang mengonsumsi teh hijau khususnya di Indonesia dapat mengetahui kadar EGCG dan aktivitas antioksidan seduhan teh hijau dalam waktu penyimpanan tertentu. Sehingga, mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dan lama waktu penyimpanan yang baik pada seduhan teh hijau.

1.4 Tujuan Khusus

1. Mengetahui apakah vitamin C mencegah penurunan kadar EGCG pada seduhan teh hijau selama waktu penyimpanan 4 hari
2. Mengetahui persen penurunan kadar EGCG sebelum dan setelah penambahan vitamin C selama waktu penyimpanan 4 hari
3. Mengetahui apakah vitamin C mencegah kenaikan aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada seduhan teh hijau selama waktu penyimpanan 4 hari
4. Mengetahui persen kenaikan IC_{50} sebelum dan setelah penambahan vitamin C selama waktu penyimpanan 4 hari

1.5 Manfaat

1. Memberikan informasi pengaruh penambahan vitamin C terhadap kadar EGCG dan aktivitas antioksidan pada seduhan teh hijau.

2. Memberikan informasi pengaruh waktu penyimpanan seduhan teh hijau terhadap kadar EGCG dan aktivitas antioksidan pada seduhan teh hijau.