



The Effect of Manalagi Apple Juice (*Malus Sylvestris* Mill) on Stability and Antioxidant Activity of Black Tea

Pengaruh Jus Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Aktivitas dan Stabilitas Antioksidan Pada Seduhan Teh Hitam

Riska Salfa Fauziyah¹⁾, Asri Darmawati¹⁾, Djoko Agus Purwanto¹⁾

¹Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: djokoagus@ff.unair.ac.id

Article History:

Received: August 1, 2022; Revised: September 22, 2022; Accepted: October 29, 2022; Online: December 1, 2022

ABSTRACT

Black tea (*Camellia sinensis* O.K var *assamica*) was one of the most widely consumed beverages by the public. Antioxidant compounds that could counteract free radicals were contained in Manalagi apple (*Malus sylvestris* Mill) juice and black tea. The purpose of this study was to prove that an increase in antioxidant activity and stability of black tea would be achieved with the addition of Manalagi apple juice. The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method was used to determine their antioxidant activities in this study. Antioxidant activity was measured in black tea at 0, 6, and 24 hours after the addition of Manalagi apple juice. Antioxidant stability of black tea was compared to black tea added with Manalagi apple juice. The results obtained showed that higher antioxidant activity of a mixture of black tea and Manalagi apple juice was indicated than the antioxidant activity of black tea alone. It was shown that a lower IC₅₀ of a mixture of black tea and Manalagi apple juice was obtained compared to black tea. An increase in the stability of the antioxidants in the black tea solution was also observed with the addition of Manalagi apple juice, and the slope of the linear equation % inhibition of the mixture was found to be lower by about one third than black tea. Because of this reason, a slowdown in the degradation rate of the antioxidant activity of black tea was achieved by adding Manalagi apple juice.

Keywords: Black Tea, Manalagi Apple Juice, DPPH, Antioxidant

ABSTRAK

Teh hitam (*Camellia sinensis* O.K var *assamica*) merupakan salah satu minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Jus Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dan teh hitam mengandung senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa penambahan sari buah apel manalagi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan stabilitas teh hitam. Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) digunakan dalam penelitian ini untuk menentukan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan teh hitam diukur pada 0, 6 dan 24 jam setelah penambahan jus apel manalagi. Stabilitas antioksidan teh hitam dibandingkan dengan teh hitam yang ditambahkan jus apel manalagi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan campuran teh hitam dan jus apel Manalagi lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas antioksidan teh hitam saja. Terlihat bahwa IC₅₀ campuran teh hitam dan jus apel Manalagi lebih rendah dibandingkan dengan teh hitam. Penambahan jus apel Manalagi juga dapat meningkatkan stabilitas antioksidan dalam larutan teh hitam dan dari slope persamaan linear % penghambatan campuran lebih rendah sekitar sepertiga dibandingkan teh hitam. Oleh karena itu penambahan jus apel Manalagi akan memperlambat laju degradasi aktivitas antioksidan teh hitam.

Kata kunci: Teh Hitam, Jus Apel Manalagi, DPPH, Antioksidan

PENDAHULUAN

Tanaman Teh (*Camellia sinensis*) telah dibudidayakan di seluruh dunia, terutama di Cina, India, Indonesia, dan di beberapa negara Asia lainnya. Teh adalah minuman yang paling banyak dikonsumsi di dunia setelah air (Li et al., 2013). Berdasarkan metode perlakuan dan cara memprosesnya, teh digolongkan menjadi tiga

jenis utama antara lain teh hijau, teh oolong, teh hitam yang masing-masing dikonsumsi sebanyak 20%, 2% dan 78%, dari konsumsi teh di seluruh dunia (Li et al., 2013). Teh Hitam memiliki kandungan utama yaitu golongan senyawa polifenol: tannin dan flavonoid. Flavonoid dibagi menjadi lima komponen diantaranya catechins, epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG), dan epigallocatechin-3-gallate (EGCG).

Cite this as Fauziyah, R. S., Darmawati, A., Purwanto, D. A. (2022) 'The Effect of Manalagi Apple Juice (*Malus Sylvestris* Mill) on Stability and Antioxidant Activity of Black Tea', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 9(2), pp. 31-35. DOI: 10.20473/bikfar.v9i2.42679



Copyright: ©2022 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA) license

EGCG merupakan komponen yang sangat aktif sebagai antioksidan (Leslie and Gunawan, 2019).

Teh memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh, manfaat teh bagi kesehatan terletak sifat antioksidannya yang polifenol paling banyak mengandung katekin yang terdiri dari Epikatekin (EC), Epigalokatekin (EGC), Epikatekinl Galat (ECG), Epigalokatekin Galat (EGCG). Kandungan paling besar dari turunan senyawa katekin adalah (-) epigalokatekin galat (EGCG) sebesar 60-70% dari seluruh total katekin (Fadhilah et al., 2021). Kandungan epigalokatekin galat pada teh hitam hanya 2,21% (Bartosikova & Necas, 2018). Oleh karena itu aktivitas antioksidannya perlu ditingkatkan dan dijaga stabilitasnya.

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) merupakan salah satu jenis buah yang banyak dikonsumsi di Indonesia (Cempaka et al., 2017). Buah apel mengandung berbagai macam senyawa kimia yang berkhasiat sebagai antioksidan diantaranya tannin, flavonoid (kuersetin), dan vitamin C (Sufrida, 2006). Penambahan Jus buah Apel Manalagi kedalam seduhan Teh Hitam diduga dapat menghasilkan interaksi sinergis sehingga dapat meningkatkan aktivitas dan stabilitas antioksidan pada campuran tersebut. Dalam penelitian ini aktivitas antioksidan diukur berdasarkan perolehan nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%), sedangkan stabilitas antioksidan diukur berdasarkan nilai slope yang diperoleh dari kurva regresi linear antara lama penyimpanan (jam) vs % Inhibisi dari sampel seduhan teh hitam dan campuran seduhan teh hitam dengan jus buah Apel Manalagi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penambahan Jus buah Apel Manalagi pada seduhan Teh Hitam terhadap aktivitas dan stabilitas antioksidan. Untuk dapat mengetahui kekuatan Teh Hitam dan Jus buah Apel Manalagi dalam menangkalkan radikal bebas maka dapat digunakan metode DPPH. Prinsip kerja metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yaitu ketika larutan DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan, maka senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada DPPH, jika terjadi perubahan warna (dari ungu tua menjadi kuning/kuning pucat) perubahan warna tersebut menunjukkan kemampuan sampel atau ekstrak dalam menangkalkan aktivitas radikal bebas DPPH (Kedare and Singh, 2011).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jus buah Apel Manalagi, teh hitam celup (Sosro, PT Sinar Sosro), EGCG standar (pure > 98%, Xi'an Rhongseng, China), dan DPPH (2,2-diphenyl- 1-pikrilhidrazil) (pro analysis, E. Merck).

Alat

Alat gelas yang digunakan yaitu alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (Ohaus, PA-214), timbangan microbalance (Mettler Toledo, XPE26), hotplate (Thermo Scientific Cimarec), vortex maxi mix (Thermo Scientific), Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi, UH5300), juice extractor (Cosmos), dan sentrifuge (Hermle, Z207A).

Penentuan IC₅₀ Seduhan Teh Hitam

Dipipet 0,5 ml larutan teh hitam dari berbagai konsentrasi yaitu 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, dan 200 ppm dan masing-masing di tambahkan 2,0 ml larutan DPPH 25 ppm dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah terbungkus aluminium foil kemudian campuran di vortex dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 517 nm (Amarowicz et al., 2000). Pengujian ini dilakukan dengan replikasi tiga kali pada setiap waktu pengukuran yaitu 0 jam, 6 jam dan 24 jam yang disimpan pada suhu ruang di tempat yang gelap atau terhindar dari cahaya matahari. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Molyneux, 2004):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{((\text{Absorban DPPH} - (\text{Absorban DPPH} + \text{sampel})))}{(\text{Absorban DPPH})} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ masing – masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Blanko untuk pengukuran persentase inhibisi yang digunakan yaitu larutan DPPH. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $Y = a + bX$. Penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = (50 - a) / b$$

Keterangan :

IC₅₀ = Konsentrasi pada 50% inhibisi

a =intersep (perpotongan garis di sumbu Y)

b = slope (kemiringan)

Y =% inhibisi

X = Konsentrasi (ppm)

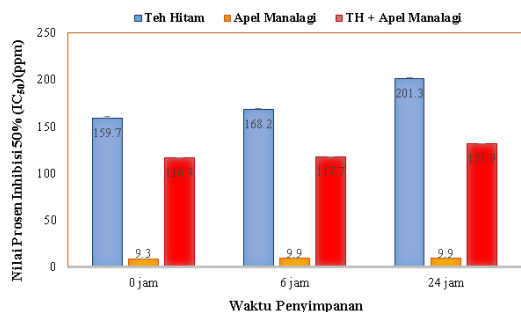
Dipipet 1,0 ml larutan teh hitam dari 5 konsentrasi yaitu 80 ppm, 160 ppm, 240 ppm, 320 ppm, dan 400 ppm. Pada larutan tersebut masing-masing ditambahkan 1,0 ml jus buah Apel Manalagi 4 ppm kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan di vortex selama 15 detik. Campuran teh hitam dan jus buah apel tersebut dipipet 0,5 ml dan di tambahkan 2,0 ml larutan DPPH 25 ppm lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah terbungkus aluminium foil kemudian campuran di vortex dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 517 nm (Amarowicz et al., 2000). Pengujian ini dilakukan dengan replikasi tiga kali pada setiap waktu pengukuran yaitu 0 jam, 6 jam dan 24 jam yang disimpan pada suhu ruang di tempat yang gelap atau terhindar dari cahaya matahari. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus Molyneux, (2004) di atas.

Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan SPSS dengan uji Independent T-test.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ teh hitam sebelum dan sesudah ditambahkan jus buah Apel Manalagi

	ICS ₅₀		
	0 Jam	6 Jam	24 Jam
The Hitam	159,7±0,04	168,2±0,2	201,3±0,7
Apel Manalagi	9,3±0,002	9,8±0,083	9,9±0,020
The+Apel Manalagi	116,9±0,5	117,7±0,2	131,9±0,2

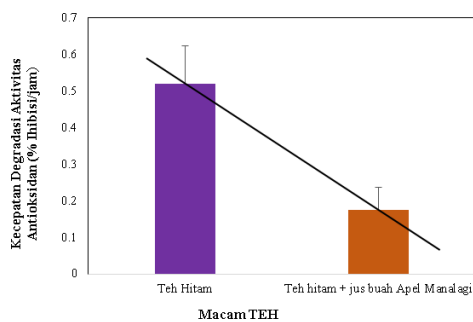


Gambar 1. Nilai IC₅₀ teh hitam, jus buah Apel Manalagi dan campuran teh hitam dan jus buah Apel Manalagi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari dusun Tulungrejo, kecamatan Bumiaji, Batu, Malang yang dipanen pada umur 6 bulan dari saat bunga mekar dan berwarna hijau muda kekuningan yang dipanen dengan cara dipetik langsung. Buah Apel Manalagi yang digunakan dalam penelitian ini sudah diidentifikasi di Unit Layanan Biologi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh aktivitas antioksidan seduhan teh hitam lebih rendah dibandingkan dengan seduhan teh hitam dengan penambahan Jus buah Apel Manalagi. Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan membandingkan nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%) yaitu konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH, antara sampel campuran Teh Hitam dan jus buah Apel Manalagi dengan sampel teh hitam dengan komposisi 1 ml:1 ml (1:1). Pada penelitian ini, hasil nilai IC₅₀ teh hitam dengan waktu penyimpanan 0 jam, 6 jam dan 24 jam pada sampel teh hitam, jus Apel Manalagi dan

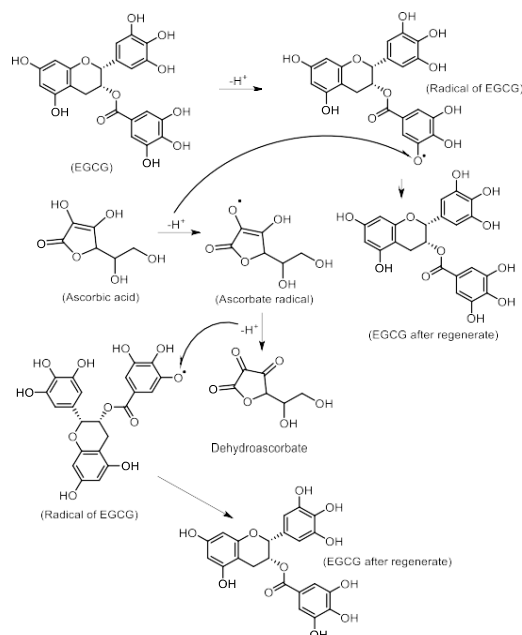


Gambar 2. Kecepatan degradasi campuran teh hitam dan jus buah Apel Manalagi lebih rendah daripada teh hitam saja. Hal ini menunjukkan bahwa campuran teh hitam dan jus buah Apel Manalagi lebih stabil daripada teh hitam.

campuran teh hitam dan jus Apel Manalagi dapat dilihat pada [Tabel 1](#) dan [Gambar 1](#) seperti di bawah ini. Jus buah Apel Manalagi mengandung senyawa kuersetin dan vitamin C yang memiliki perbedaan potensial redoks yang besar sehingga dapat menghasilkan efek sinergis dalam meningkatkan aktivitas antioksidan teh hitam (Tsao, 2015). Hal tersebut ditunjukkan dari perolehan nilai IC₅₀ dari sampel campuran seduhan teh hitam dan jus buah Apel Manalagi yakni 116,9 ± 0,5 ppm.

Stabilitas antioksidan pada penelitian ini dapat dilihat dari laju penurunan aktivitas antioksidan pada seduhan teh hitam dan campuran teh hitam dan jus buah Apel Manalagi yang ditunjukkan oleh slope yang diperoleh dari kurva regresi linear antara lama penyimpanan (jam) vs % inhibisi. Berdasarkan hasil penelitian ini, laju penurunan stabilitas aktivitas antioksidan pada campuran teh hitam dan Jus buah Apel Manalagi (0,174% inhibisi/jam) lebih rendah dibandingkan dengan seduhan teh hitam saja (0,520% inhibisi/jam) sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan jus buah Apel Manalagi pada seduhan teh hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih stabil ([Gambar 2](#)).

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa penambahan jus buah Apel Manalagi pada seduhan teh hitam dapat meningkatkan aktivitas dan stabilitas antioksidan. Analisis data menggunakan SPSS dengan uji Independent T-test menunjukkan bahwa adanya perbedaan bermakna antara stabilitas antioksidan sampel teh hitam dan teh hitam dengan penambahan jus buah Apel Manalagi, artinya stabilitas EGCG dalam teh hitam yang ditambahkan jus buah Apel Manalagi lebih stabil dibandingkan teh hitam saja. Hal ini disebabkan karena dalam jus buah Apel manalagi terkandung vitamin C dan kuersetin yang akan menstabilkan EGCG dari teh hitam. Hasil penelitian Rahman dan kawan-kawan (2019) menyatakan bahwa penurunan persentase EGCG dengan penambahan vitamin C lebih kecil daripada tanpa



Gambar 3. Prediksi reaksi penjagaan terhadap stabilitas EGCG oleh vitamin C (Rahman et al., 2019).

penambahan vitamin C. EGCG mempunyai kelemahan yaitu mudah terdegradasi menjadi senyawa lain, yaitu mengalami autooksidasi membentuk Theasinensin A dan epimerasi membentuk GCG (Sang et al., 2011). Dalam menstabilkan EGCG dari teh hitam, vitamin C akan bekerja sebagai reduktor, yaitu melepaskan elektronnya sehingga dapat mengubah EGCG radikal menjadi EGCG non radikal, selain itu adanya ikatan hidrogen pada posisi OH yang mudah teroksidasi menjadi lebih terlindungi sehingga EGCG bisa menjadi lebih stabil seperti uraian pada [Gambar 3](#) di bawah ini. Dengan adanya penelitian ini, dapat digunakan sebagai pertimbangan bagi konsumen untuk mengonsumsi minuman teh hitam yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi sehingga dapat mencegah dari berbagai gangguan kesehatan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa penambahan jus buah Apel Manalagi pada seduhan teh hitam dapat meningkatkan aktivitas dan stabilitas antioksidan. Analisis data menggunakan SPSS dengan uji Independent T-test menunjukkan bahwa adanya perbedaan bermakna antara stabilitas antioksidan sampel teh hitam dan Teh Hitam dengan penambahan jus buah Apel Manalagi. Dengan demikian, disarankan bagi konsumen untuk mengonsumsi minuman teh hitam yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi serta menambahkan jus buah Apel Manalagi untuk meningkatkan aktivitas dan stabilitas antioksidannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Diucapkan banyak terima kasih kepada seluruh staf Laboratorium MPL (Multi-Purpose Laboratory), Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarowicz, R., Naczki, M. and Shahidi, F. (2000) 'Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls', *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(9), pp.957-961.
- Bartosikova, L. and Necas, J. (2018) 'Epigallocatechin gallate: A review', *Veterinarni Medicina*, 63(10), pp.443-467.
- Cempaka, A.R., Santoso, S. and Tanuwijaya, L.K. (2017) 'Pengaruh metode pengolahan terhadap kandungan quercetin berbagai kualitas apel lokal dan impor', *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 4(1), pp.48-58.
- Fadhilah, Z.H., Perdana, F. and Syamsudin, R.A.M.R. (2021) 'Review: Telaah kandungan senyawa katekin dan epigallocatekin galat (EGCG) sebagai antioksidan pada berbagai jenis teh', *Jurnal Pharmascience*, 8(1), p.31.
- Kedare, S.B. and Singh, R.P. (2011) 'Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay', *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), pp.12-22.
- Leslie, P.J. and Gunawan, S. (2019) 'Daun, uji fitokimia dan perbandingan efek antioksidan pada teh hijau, teh hitam, dan teh putih (Camellia Sinensis) dengan metode DPPH (2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)', *Tarumanagara Medical Journal*, 1(2), pp.383-388.
- Li, N., Taylor, L.S., Ferruzzi, M.G. and Mauer, L.J. (2012) 'Kinetic study of catechin stability: Effects of pH, concentration, and temperature', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(51), pp.31-39.
- Molyneux, P. (2004) 'The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity', *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, pp.11-19.
- Rahman, A.P., Purwanto, D.A. and Isnaeni. (2019) 'The effect of vitamin C addition on epigallocatechin gallate (EGCG) stability in green tea solution', *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(2), pp.62-68.
- Sang, S., Lambert, J.D., Ho, C.T. and Yang, C.S. (2011) 'The chemistry and biotransformation of tea constituents', *Pharmacological Research*, 64(2), pp.87-99.
- Sufrida (2006) *Khasiat dan manfaat apel*. Jakarta: Agromedia, pp.11-12.
- Tsao, R. (2015) *Handbook of antioxidants for food preservation*. Woodhead Publishing, pp.335-344.