

Ekstrak Daun Teh Hitam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Kelapa

Black Tea Leaves Extract As A Natural Antioxidant In Coconut Oil

Agnes Belinda Ferina, Tjandra Pantjajani, Ruth Chrisnasari

Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya

Agnez95@ymail.com

Abstrak - Minyak kelapa dapat mengalami ketengikan selama proses penggunaan. Ketengikan pada minyak kelapa dapat terjadi karena proses oksidasi. Untuk mencegah proses oksidasi pada minyak, umumnya digunakan senyawa antioksidan. Antioksidan sintetik sangat umum digunakan sebagai pengawet minyak komersial, namun antioksidan sintetik diketahui dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Untuk itu, pada penelitian ini dilakukan studi penambahan antioksidan alami dari ekstrak kasar daun teh hitam terhadap mutu minyak kelapa yang diberi perlakuan untuk mempercepat ketengikan. Daun teh hitam diekstraksi menggunakan 3 jenis pelarut yang berbeda untuk menentukan pelarut terbaik dalam mengekstrak antioksidan dari daun teh hitam yang memberikan aktivitas antioksidan tertinggi. Didapatkan bahwa pelarut terbaik dalam mengekstrak daun teh hitam adalah etanol 96% dengan aktivitas antioksidan sebesar 75,01%. Ekstrak kasar daun teh hitam sebanyak 0,01% (v/v) kemudian digunakan untuk perlakuan pada minyak kelapa dalam mencegah kerusakan minyak. Dilakukan pengujian terhadap beberapa parameter fisik dan kimia minyak kelapa, diantaranya angka iodium, angka peroksida, angka TBA, serta perubahan warna dan viskositas. Hasil pengujian parameter fisik dan kimia minyak kelapa menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kasar daun teh hitam dapat menghambat laju oksidasi minyak dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan ekstrak kasar). Berdasarkan hasil penelitian, efisiensi antioksidan dari ekstrak kasar daun teh hitam adalah sebesar 1,5.

Kata Kunci : antioksidan alami, daun teh hitam, ekstraksi antioksidan, minyak kelapa

Abstract - Coconut oil can undergo rancidity during the usage. Rancidity in coconut oil can occur due to the oxidation process. Antioxidant mostly used to prevent oil oxidation. Synthetic antioxidant usually used as a preservative in commercial oil, however synthetic antioxidant had been known to cause several health problems. Therefore, this research was aimed to study the addition of antioxidant from crude extract of black tea leaves in coconut oil quality which treated to accelerate its rancidity. Black tea leaves were extracted using 3 different solvents to determine the best solvent to extract the antioxidant from black tea leaves which gave the highest antioxidant activity. The best solvent to extract the black tea leaves was found to be ethanol 96% with the antioxidant activity of 75,01%. As much as 0,01% (v/v) crude extract of black tea leaves then used for treatment to prevent the deterioration of coconut oil. The oil quality was assessed by measuring iodine value, peroxide value, TBA value and the change in colour and viscosity. The results showed that the addition of crude extract from black tea leaves delayed the oxidation rate in coconut oil compared to the control (without extract addition). The antioxidant efficiency of crude extract from black tea leaves was 1,5.

Keywords : natural antioxidant, black tea leaves, antioxidant extraction, coconut oil

PENDAHULUAN

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan salah satu komoditas unggulan dan strategis yang penting dalam sektor perkebunan di Indonesia. Tanaman kelapa memiliki posisi strategis terutama sebagai bahan baku pembuatan minyak goreng (Basmar, 2008). Minyak goreng sangat erat kaitannya dalam kehidupan masyarakat dan dimanfaatkan terutama dalam bidang pangan sebagai medium penghantar panas serta menambah rasa gurih, nilai gizi dan kalori dalam bahan pangan (Mutiarra *et al.*, 2009).

Mutu minyak dapat mengalami penurunan selama waktu penggunaan yang dapat ditandai dengan terjadinya ketengikan, yaitu perubahan bau dan rasa minyak akibat terbentuknya komponen yang tidak diinginkan seperti asam lemak bebas, aldehida, atau keton. Ketengikan pada minyak umumnya terjadi melalui proses oksidasi dimana asam lemak tak jenuh dalam minyak teroksidasi oleh oksigen dan menghasilkan senyawa peroksida yang tidak stabil (Asriani, 2006).

Cara umum yang digunakan untuk mencegah oksidasi molekul lipida pada minyak adalah dengan penambahan senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa dengan berat molekul kecil yang dapat bereaksi dengan molekul oksidan sehingga dapat menghambat kerusakan suatu senyawa biomolekul (Langseth, 1995). Terdapat 2 jenis antioksidan, yaitu antioksidan alami dan sintetis. Dalam bidang industri, antioksidan yang sering digunakan adalah antioksidan sintetis seperti BHA (*Butylated Hydroxyanisole*) dan BHT (*Butylated Hydroxytoluene*). Namun berdasarkan penelitian Amarowicz *et al.* (2000), antioksidan sintetis dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis dan dalam jangka waktu lama tidak terjamin keamanannya.

Teh hitam merupakan teh yang terbuat dari daun muda pohon teh melalui proses pelayuan, penggulungan, fermentasi, dan pengeringan. Menurut Kuroda & Hara (1999), teh hitam memiliki kandungan antioksidan utama berupa katekin (300 µg/ml) dan theaflavin (64 µg/ml). Berdasarkan permasalahan diatas, maka pada penelitian ini dilakukan penggalian sumber antioksidan alami dari daun teh hitam sehingga diharapkan dapat mencegah kerusakan selama proses pemanasan pada minyak kelapa.

METODE PENELITIAN

1. Pembuatan Minyak Kelapa

Pembuatan minyak kelapa dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan dari Mutiara *et al.* (2009). Sebanyak 2 buah kelapa tua diparut, kemudian ditimbang sebanyak 750 gram dan ditambahkan dengan 500 ml air. Kemudian kelapa diperas dan disaring hingga diperoleh santan. Santan dimasukkan ke dalam penggorengan dengan api kecil dan diaduk perlahan secara terus-menerus hingga air menguap dan terbentuk lapisan minyak dan gumpalan yang disebut sebagai *blondo*. Selanjutnya minyak dituang ke dalam botol sampel dan disimpan untuk pengujian berikutnya.

2. Ekstraksi Antioksidan Dari Daun Teh Hitam

Daun teh hitam komersil ditimbang sebanyak 1 kg dan dihancurkan dengan cara diblender kering dan diayak dalam ayakan 70 Mesh. Sebanyak 20 gram daun yang telah halus ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat, kemudian ditambahkan 100 ml pelarut (aseton 25%, asetonitril 50%, dan etanol 96%) untuk proses ekstraksi dengan metode maserasi. Selanjutnya campuran diletakkan di atas *hotplate stirrer* dan diaduk dengan kecepatan 100 rpm selama 2 jam pada suhu 60°C. Kemudian hasil ekstraksi difiltrasi menggunakan pompa vakum. Pemekatan untuk ekstrak dengan pelarut etanol 96% dilakukan pada suhu 55°C; untuk ekstrak dengan pelarut asetonitril 50% dilakukan pada suhu 55°C; dan untuk ekstrak dengan pelarut aseton 25% dilakukan pada suhu 40 °C dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 30 menit sehingga diperoleh ekstrak kasar dari masing-masing pelarut (Uzunalic *et al.*, 2005).

3. Perlakuan Minyak Kelapa untuk Mempercepat Ketengikan

Sebanyak 100 ml minyak kelapa ditambahkan dengan 0,01 ml (0,01% v/v) ekstrak kasar antioksidan dari daun teh hitam. Penambahan antioksidan tersebut ditentukan berdasarkan proses optimasi yang dilakukan pada uji pendahuluan. Dalam uji kualitas minyak, sampel ditambahkan dengan 0,5 ml air kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 180°C dengan variasi lama waktu pemanasan, meliputi 0 jam, 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Proses pemanasan pada suhu 180°C tersebut

merupakan simulasi untuk proses penggorengan pada umumnya (Ayucitra *et al.*, 2011).

4. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Antioksidan dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam

4.1 Uji Kualitatif Ekstrak Kasar dari Daun Teh Hitam dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian antioksidan dari ekstrak kasar daun teh hitam dengan metode KLT dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan dari Ligor *et al.* (2008). Sampel ekstrak kasar yang diperoleh dari pelarut terbaik ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ kemudian plat dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi eluen (fase gerak) aseton:kloroform:air (5:5:1). Selanjutnya eluen dibiarkan merambat hingga kurang lebih 1 cm di bawah batas atas plat silika gel, kemudian plat dikeluarkan dan dibiarkan mengering pada suhu kamar. Bercak noda yang terbentuk diamati di bawah lampu UV 254 nm. Dari kromatogram yang diperoleh, diukur jarak migrasi dari masing-masing bercak dan dibandingkan dengan jarak migrasi dari eluen yang digunakan.

$$\text{Faktor retensi (Rf)} = \frac{\text{jarak migrasi sampel}}{\text{jarak migrasi eluen}}$$

4.2 Uji Kuantitatif Antioksidan dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam

4.2.1 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan dari Aqil *et al.* (2006). Sampel yang digunakan merupakan sampel ekstrak kasar yang diperoleh dari masing-masing pelarut. Sebanyak 25 mg sampel ekstrak dilarutkan dalam 25 ml etanol (larutan stok sebesar 1000 mg/L) kemudian diencerkan dalam 10 ml etanol menjadi beberapa konsentrasi: 0,1; 0,5; 1, 5, dan 10 mg/L. Setiap konsentrasi larutan diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan 1 ml larutan DPPH (4 mg/100 ml etanol). Selanjutnya dihomogenisasi dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang di tempat gelap. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Kontrol positif yang digunakan merupakan asam galat dengan berbagai konsentrasi

dan kontrol negatifnya merupakan larutan DPPH dengan etanol sebagai blanko. Adapun prosentase penangkapan radikal DPPH (%) dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

4.2.2 Uji Total Phenolic Compound (TPC) dengan Metode Folin-Ciocalteu

Sebanyak 200 μl sampel ekstrak kasar daun teh hitam dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/L}$; 2,5 ml reagen Folin-Ciocalteu 10% dan 2 ml Na_2CO_3 7,5% dicampurkan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 45 °C. Absorbansi larutan kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Total senyawa fenolik ekstrak kasar daun teh hitam dinyatakan sebagai miligram (mg) asam galat ekuivalen per gram bobot ekstrak kering (GAE/gr ekstrak). Sebagai standar, digunakan asam galat pada berbagai konsentrasi (0, 50, 100, 200, 300, 400, dan 500 $\mu\text{g/L}$) (Javanmardi *et al.*, 2003).

5. Uji Penentuan Mutu Minyak (Uji Biokimia)

5.1 Uji Angka Peroksida

Ditimbang sebanyak 5 gram sampel minyak kelapa. Kemudian ditambahkan 30 ml larutan asam asetat:kloroform (3:2), larutan digoyangkan hingga bahan terlarut semua, selanjutnya ditambahkan dengan 0,5 ml larutan KI jenuh. Kemudian didiamkan selama 1-2 menit sambil sesekali digojog, ditambahkan 30 ml akuades. Setelah itu dititrasasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N sampai warna kuning hampir hilang, ditambahkan dengan 0,5 ml indikator amilum 1% dan dilanjutkan titrasi hingga warna biru mulai hilang (Sudarmaji *et al.*, 1997). Angka peroksida dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Angka peroksida} = \frac{\text{Volume Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat sampel (g)}}$$

5.2 Uji Bilangan Iodium

Ditimbang sebanyak 0,5 gram sampel minyak kelapa. Kemudian ditambahkan 10 ml kloroform dan 25 ml reagen iodium-bromida (Hanus) dan diinkubasi pada tempat gelap selama 30 menit dengan sesekali digojog. Selanjutnya ditambahkan 10 ml larutan KI 15% dan 50-100 ml akuades yang telah dididihkan dan segera dititrasasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N hingga berwarna kuning pucat.

Selanjutnya ditambahkan 2 ml amilum 1% , kemudian titrasi dilanjutkan hingga warna biru hampir hilang. Larutan blanko dibuat dari 25 ml reagen iodium-bromida dan ditambahkan 10 ml KI 15%, selanjutnya diencerkan dengan 100 ml akuades yang telah dididihkan dan segera dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N hingga berwarna kuning pucat. Banyaknya $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ untuk titrasi blanko dikurangi titrasi sesungguhnya adalah ekuivalen dengan banyaknya iodium yang diikat dengan lemak (Sudarmaji *et al.*, 1997).

$$\text{Angka iodium} = \frac{\text{ml titrasi (blanko - sampel)} \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 12,691}{\text{Berat sampel (g)}}$$

5.3 Uji Bilangan TBA

Pengujian mutu minyak dengan penentuan bilangan TBA dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan dari Mutiara *et al.* (2013). Sebanyak 5 ml sampel minyak kelapa diambil dan ditambahkan dengan 10 ml asam trikloro asetat 20%, kemudian divorteks hingga tercampur rata, selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit. Diambil 5 ml bagian yang berwarna bening dan ditambahkan dengan 5 ml asam tiobarbiturat 0,02 M. Campuran didiamkan selama 15 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 528 nm. Bilangan TBA dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Angka TBA} = \frac{3}{\text{Berat sampel (g)}} \times A_{528} \times 7,8$$

5.4 Uji Fisik Minyak Kelapa

5.4.1 Uji Warna

Warna pada minyak kelapa diamati dengan menggunakan metode *color cut*. Sampel minyak dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dibandingkan warnanya pada jam ke-0 pemanasan (T_0) dengan jam ke-6 pemanasan (T_6) dan diamati pergeseran/perubahan warna yang terjadi berdasarkan spektrum warna *color cut* yang digunakan.

5.4.2 Uji Viskositas

Adanya perubahan kekentalan pada minyak kelapa dapat diamati dengan menggunakan alat viskometer *Cone and Plate*. Sampel diletakkan ditengah papan pada alat viskometer, kemudian dinaikkan hingga posisi papan berada di bawah

kerucut, sehingga kerucut tercelup dengan sampel minyak uji dan mengukur tahanan gerak dari bagian yang berputar. Semakin kuat putaran yang terjadi pada kerucut, semakin tinggi viskositas sampel yang diuji sehingga hambatannya makin besar (Moechtar, 1990).

6. Penentuan Efisiensi Antioksidan

Berdasarkan data hasil uji angka peroksida, dilakukan penentuan efisiensi antioksidan. Efisiensi antioksidan (EA) dapat dihitung dengan rumus:

$$EA = \frac{IP_A}{IP_B}$$

IP_A merupakan periode induksi (waktu dalam jam) yang dibutuhkan sampel minyak dengan penambahan ekstrak kasar daun teh hitam untuk mencapai bilangan peroksida 2 meq/kg dan IP_B merupakan periode induksi (waktu dalam jam) yang dibutuhkan sampel minyak kontrol untuk mencapai bilangan peroksida 2 meq/kg (batas maksimum angka peroksida berdasarkan SNI) (Erawati, 2012).

Analisis Data

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental di laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini diperoleh 2 data parametrik, yaitu data pelarut terbaik yang digunakan untuk mengekstrak daun teh hitam serta data efektivitas antioksidan dalam menghambat kerusakan minyak. Data parametrik tersebut diolah dengan ANOVA *one way*. Sebelum data diolah dengan ANOVA *one way*, data *Total Phenolic Compound* dan data hasil uji parameter kualitas minyak diuji terlebih dahulu dengan *Normality Test* untuk menentukan apakah data berdistribusi normal atau tidak, serta diuji homogenitasnya. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, maka data dapat diolah dengan ANOVA *one way*.

Untuk menentukan jenis pelarut terbaik, maka data hasil pengukuran *Total Phenolic Compound* dan uji DPPH dilakukan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan nyata pada data. Untuk menentukan konsentrasi antioksidan yang terbaik dalam menghambat kerusakan minyak, dilakukan uji Tukey pada data hasil uji parameter kualitas minyak sehingga dapat diketahui perbedaan nyata pada data yang diperoleh.

Uji Normalitas

H₀: Data berdistribusi normal

H₁: Data tidak berdistribusi normal

Apabila $P_{value} > 0,05$ maka H₀ diterima

$P_{value} < 0,05$ maka H₀ ditolak

Apabila H₀ diterima, maka dilakukan uji ANOVA satu arah

Uji Homogenitas

H₀: Data homogen

H₁: Data tidak homogen

Apabila $P_{value} > 0,05$ maka H₀ diterima

$P_{value} < 0,05$ maka H₀ ditolak

Apabila H₀ diterima, maka dilakukan uji ANOVA satu arah, sedangkan jika data tidak berdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan uji non parametrik.

Uji ANOVA Satu Arah

H₀: Tidak ada perbedaan nyata terhadap penambahan antioksidan dalam menghambat kerusakan pada minyak kelapa yang telah diberi perlakuan

H₁: Paling tidak ada satu wa ktu perlakuan yang efektif dan berbeda nyata dalam menghambat kerusakan minyak kelapa

Dari hasil uji ANOVA satu arah, apabila diperoleh $P_{value} < 0,05$ maka dilakukan uji lanjut dengan uji Tukey, sehingga dapat diketahui adanya perbedaan nyata pada efektivitas antioksidan dalam menghambat kerusakan minyak kelapa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

1. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Antioksidan dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam

1.1 Hasil Uji *Total Phenolic Compound* (TPC) dengan metode Folin-Ciocalteu dan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam

Pengujian *Total Phenolic Compound* (TPC) dan aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak kasar dari daun teh hitam yang diperoleh dari proses maserasi dengan 3 jenis pelarut yang berbeda, yaitu etanol 96%, asetonitril 50%, dan aseton 25%. Hasil uji TPC dan DPPH dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji *Total Phenolic Compound* (TPC) dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam dengan Berbagai Pelarut

Pelarut	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g sampel)	Aktivitas Antioksidan (%inhibisi)
Etanol 96%	253,92 ^b ± 8,41	75,01 ^a ± 2,28
Asetonitril 50%	389,35 ^a ± 35,69	63,03 ^b ± 3,06
Aseton 25%	313,23 ^b ± 34,7	78,46 ^a ± 1,31

Keterangan : Huruf berbeda yang mengikuti angka rerata (n=3) menunjukkan adanya perbedaan signifikan menggunakan uji Tukey ($P_{value} < 0,05$)

GAE = *Gallic Acid Equivalent*

Kandungan fenolik total dari sampel ekstrak kasar daun teh hitam dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*), yaitu jumlah kesetaraan miligram asam galat dalam 1 g ram sampel. Berdasarkan hasil penelitian Tomsone *et al.* (2012), kandungan TPC pada sampel meningkat seiring dengan meningkatnya polaritas pelarut yang digunakan. Pelarut asetonitril memiliki indeks polaritas sebesar 5,8 sedangkan pelarut etanol dan aseton memiliki indeks polaritas berturut-turut sebesar 5,2 dan 5,1. Indeks polaritas meningkat seiring dengan meningkatnya polaritas pelarut. Hasil pada penelitian sesuai dengan penelitian Uzunalic *et al.* (2005) bahwa ekstraksi golongan fenolik (kafein dan katekin) dari teh hijau dengan pelarut asetonitril 50% memiliki nilai efisiensi ekstraksi lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi oleh aseton 50% dan etanol 96%.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak kasar antioksidan yang dimaserasi dengan aseton 25%, namun tidak berbeda nyata dengan ekstrak yang dimaserasi dengan etanol

96%, sedangkan aktivitas antioksidan te rendah terdapat pada ekstrak yang dimaserasi dengan asetonitril 50%.

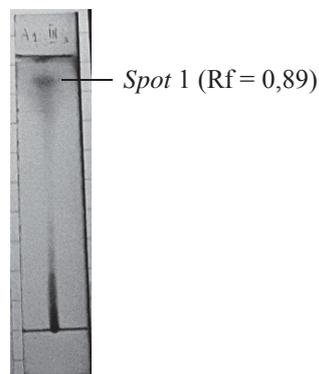
Dewi *et al.* (2009) mengatakan bahwa komponen fenolik memiliki aktivitas penghambatan terhadap senyawa-senyawa radikal bebas, sehing ga terdapat hubungan linear (korelasi) antara kadar TPC yang terkandung dalam sampel dengan aktivitas antioksidan dalam sampel. Namun hubungan ini tidak ditemukan pada sampel ekstrak kasar antioksidan dari daun teh hitam yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak dari pelarut asetonitril 50% memiliki kadar TPC tertinggi, namun memiliki aktivitas antioksidan yang paling rendah. Hasil ini sesuai dengan penelitian Tomson *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari sampel yang diuji juga dipengaruhi oleh kehadiran komponen-komponen non-fenolik atau adanya kombinasi / interaksi dari berbagai macam senyawa dalam sampel. Alasan lain adalah bahwa komponen fenolik yang berbeda mungkin menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda, bergantung pada strukturnya, dapat menyebabkan efek sinergis atau antagonis antara satu dengan yang lain dalam ekstrak kasar yang diuji.

Berdasarkan ketiga variasi pelarut yang digunakan, selanjutnya dipilih satu jenis pelarut yang menghasilkan nilai aktivitas antioksidan tertinggi. Berdasarkan hasil uji statistik pada penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, ekstrak dari pelarut aseton 25% dan ekstrak dari pelarut etanol 96% tidak ada beda signifikan, sehingga dari kedua jenis pelarut tersebut dapat dipilih salah satu saja. Pada penelitian ini, dipilih pelarut etanol 96% untuk proses maserasi daun teh hitam. Pelarut etanol 96% lebih dipilih daripada aseton 25% berdasarkan beberapa pertimbangan, diantaranya bahwa pelarut aseton diketahui lebih bersifat toksik bagi tubuh, sedangkan etanol merupakan bahan yang masuk dalam status GRAS (*Generally Regarded As Safe*) (Rajaei *et al.*, 2008).

1.2 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam

Uji antioksidan dari ekstrak kasar daun teh hitam secara kualitatif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji KLT dilakukan pada ekstrak kasar yang dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Uji KLT dilakukan dengan menggunakan fase gerak berupa aseton:kloroform:air (5:5:1). Hasil perhitungan Rf

yang diperoleh adalah sebesar 0,89. Hasil kromatogram KLT ekstrak kasar daun teh hitam dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengujian Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam dengan Pelarut Etanol 96%

Penelitian Ligor *et al.* (2008) melakukan uji KLT pada ekstrak kasar daun teh hitam dan teh hijau menggunakan eluen aseton:kloroform:air dengan komposisi 8:2:1 (v/v) dan mendapatkan senyawa standar kaempferol dengan nilai Rf sebesar 0,87. Untuk dapat memastikan senyawa yang muncul pada *spot* (bercak) yang dihasilkan, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut.

2. Uji Optimasi Penambahan Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam pada Minyak Kelapa

Uji optimasi dilakukan dengan penambahan ekstrak sebesar 15%, 5%, 1%, 0,1%, dan 0,01% ke dalam minyak kelapa. Hasil pengujian parameter biokimia dan perbandingan warna pada masing-masing penambahan konsentrasi ekstrak kasar ditunjukkan pada Tabel 2, Gambar 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Hasil Uji Optimasi Penambahan Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam pada Minyak Kelapa

Hasil Uji Biokimia	Jam ke-	Penambahan Ekstrak Sebanyak					
		Kontrol (0%)	15%	5%	1%	0,1%	0,01%
Angka Iod (gr Iod/100 gr)	0	5,7	0,83	1,97	4,64	4,9	6,5
	2	6,6	-	-	4,67	4,3	4,7
	4	4,4	-	-	4,09	7,8	8,4
	6	8,9	0,4	1,9	4,48	6,9	12,5
Angka Peroksidasi (meq O ₂ /kg)	0	0	0	0	0	0	0
	2	1,1	-	-	1,98	0,59	0,69
	4	2,9	-	-	1,98	1,55	1,87
	6	5,2	0	0	1,98	2,38	2,96
Angka TBA (meq malonal dehid/k)	0	0,39	0,71	1,67	0,54	1,17	0,37
	2	0,42	-	-	0,86	1,14	0,54
	4	0,49	-	-	0,61	0,95	0,6
	6	0,60	0,4	1,9	1,32	1,34	0,6



Gambar 2. Variasi Penambahan Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam (A = 15%, B = 5%, C = 1%, D = 0,1%, E = 0,01%, dan F = k ontrol tanpa penambahan ekstrak) dalam Minyak Kelapa Sebelum Pemanasan



Gambar 3. Variasi Penambahan Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam (A = 15%, B = 5%, C = 1%, D = 0,1%, E = 0,01%, dan F = k ontrol tanpa penambahan ekstrak) dalam Minyak Kelapa Setelah 6 Jam Pemanasan

Penentuan konsentrasi penambahan ekstrak kasar daun teh hitam merupakan uji pendahuluan yang bertujuan agar ekstrak kasar dapat digunakan secara efektif dan efisien. Penambahan ekstrak sebesar 0,01% (v/v) dipilih berdasarkan beberapa pertimbangan dari hasil uji. Pada penambahan ekstrak sebesar 0,01%, terdapat perubahan pada parameter uji biokimia yang lebih teramati, sedangkan pada penambahan ekstrak dengan konsentrasi 15%, 5%, 1%, dan 0,1%, terdapat perubahan parameter uji biokimia yang kurang dapat diamati. Pertimbangan lain untuk pemilihan ekstrak dengan konsentrasi 0,01% adalah berdasarkan segi warna minyak kelapa yang dihasilkan. Warna suatu produk menjadi kesan awal terciptanya penilaian terhadap produk tersebut. Penelitian Asni & Yanti (2014) menyatakan bahwa warna bening merupakan warna minyak kelapa yang disukai konsumen. Pada penelitian yang dilakukan (Gambar 2 dan 3), penambahan ekstrak sebesar 15%, 5%, 1% dan 0,1% menyebabkan warna minyak kelapa menjadi gelap dan berbeda dengan minyak kontrol (tanpa penambahan ekstrak). Berdasarkan fenomena yang terjadi, maka selanjutnya dipilih penambahan ekstrak sebesar 0,01% untuk diaplikasikan ke dalam minyak kelapa.

3. Uji Kualitas Minyak Kelapa (Uji Biokimia)

Pengujian kualitas minyak kelapa dilakukan dengan uji biokimia, meliputi uji angka iodium, angka peroksida, dan angka *Thiobarbituric Acid* (TBA). Uji biokimia dilakukan pada minyak kelapa yang telah ditambahkan ekstrak kasar daun teh hitam sebanyak 0,01% (v/v) dan pada kontrol (tanpa penambahan ekstrak). Pengujian dilakukan pada minyak kelapa dengan *treatment* penambahan air 5 ml air / 1 L minyak) dan perlakuan pemanasan selama 0 jam, 2 jam, 4 jam dan 6 jam. Hasil uji parameter biokimia pada minyak kelapa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Minyak Kelapa dengan Penambahan 0,01% Ekstrak Daun Teh Hitam

Parameter Biokimia		Waktu Pemanasan (Jam)			
		0	2	4	6
Angka Iodium (gr I ₂ /100 gr)	Sampel	6,6 ± 2,2	4,7 ± 1,95	7 ± 1,26	8,5 ± 3,44
	Kontrol	7,13 ± 2	6,9 ± 1,4	6,2 ± 2,7	7,7 ± 1,1
Angka Peroksida (meq O ₂ /kg)	Sampel	0 ^d	0,6 ^{cd} ± 0,05	1,4 ^c ± 0,44	3,4 ^b ± 0,62
	Kontrol	0 ^d	0,9 ^{cd} ± 0,3	2,7 ^b ± 0,3	5,1 ^a ± 0,3
Angka TBA (meq MDA/kg)	Sampel	0,4 ± 0,08	0,58 ± 0,04	0,7 ± 0,13	0,76 ± 0,2
	Kontrol	0,5 ± 0,17	0,64 ± 0,18	0,71 ± 0,18	0,87 ± 0,24

Keterangan : Huruf berbeda yang mengikuti angka rerata (n=3) menunjukkan adanya perbedaan signifikan menggunakan uji Tukey ($P_{value} < 0,05$)

Angka iodium merupakan parameter kimia yang mengkarakterisasikan minyak berdasarkan derajat ketidakjenuhannya. Menurut Marina *et al.* (2009), angka iodium mengalami penurunan seiring dengan lama pemanasan yang diberikan. Namun berdasarkan hasil penelitian, didapatkan angka iodium pada minyak kelapa kontrol dan minyak kelapa dengan penambahan ekstrak kasar daun teh hitam tidak berbeda nyata antar waktu perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa minyak kelapa mengandung komponen yang dapat membantu mempertahankan kualitasnya. Kumar & Krishna (2015) melakukan pengujian kadar tokoferol pada minyak kelapa murni dan memperoleh hasil bahwa minyak kelapa mengandung α -tokoferol sebesar 1,6 mg/100 gr sampel. Keberadaan tokoferol dalam minyak kelapa ini mungkin yang berperan dalam membantu mempertahankan kualitas minyak kelapa selama proses pemanasan.

Angka peroksida merupakan pengukuran konsentrasi peroksida dan hidroperoksida yang terbentuk pada tahap awal oksidasi lipid. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa angka peroksida pada minyak kelapa dengan penambahan ekstrak kasar daun teh hitam lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hasil ini sesuai dengan penelitian Navas *et al.* (2006) yang melakukan penambahan ekstrak teh hitam pada minyak jagung dan mendapatkan hasil bahwa ekstrak teh hitam mampu menekan kenaikan angka peroksida pada minyak jagung selama proses pemanasan pada suhu 140°C dalam waktu 2 hari.

Uji angka TBA digunakan untuk mengukur produk oksidasi sekunder yang terjadi. Berdasarkan hasil, terlihat bahwa angka TBA tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara minyak kontrol dengan sampel dan antar waktu perlakuan. Hal ini mungkin terjadi karena angka peroksida yang dihasilkan belum mencapai tingkat maksimum, sehingga laju dekomposisi peroksida menjadi produk oksidasi sekunder lebih kecil daripada laju pembentukannya (Shahidi & Wanasudara, 2005).

4. Uji Perubahan Fisik Minyak Kelapa

Uji perubahan fisik minyak kelapa dilakukan dengan uji perubahan warna dan viskositas. Kedua uji dilakukan pada minyak kelapa yang telah ditambahkan ekstrak kasar daun teh hitam sebanyak 0,01% (v/v) dan pada kontrol (tanpa penambahan ekstrak). Pada minyak kelapa, dilakukan *treatment* dengan penambahan air (5 ml air / 1 L minyak) dan perlakuan pemanasan selama 0 jam dan 6 jam.

4.1 Uji Perubahan Warna

Tabel 4 menunjukkan perubahan warna yang terjadi pada sampel minyak kelapa yang diberi perlakuan 0 jam dan 6 jam pemanasan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan 6 jam pemanasan, minyak kelapa dengan penambahan ekstrak memiliki warna kuning lebih gelap daripada minyak kelapa kontrol. Perbedaan warna ini disebabkan karena adanya penambahan ekstrak kasar daun teh hitam yang mengandung pigmen dan komponen fenolik. Selama proses pemanasan, komponen tersebut dapat mengalami degradasi menghasilkan produk turunannya sehingga menyebabkan warna minyak menjadi lebih gelap (Nor *et al.*, 2008).

Tabel 4. Hasil Uji Perubahan Warna pada Minyak Kelapa dengan Penambahan 0,01% Ekstrak Daun Teh Hitam dengan Perlakuan Pemanasan

Spektrum Perubahan Warna*	Waktu Pemanasan (Jam)	Warna Kontrol	Warna Sampel
<p>#FFFFFF rgb(255, 255, 255)</p> <p>#FFFFCC rgb(255, 255, 204)</p> <p>#FFFF99 rgb(255, 255, 153)</p>	0	 <p>#FFFFFF rgb(255, 255, 255)</p>	 <p>#FFFFFF rgb(255, 255, 255)</p>
<p>#FFFF66 rgb(255, 255, 102)</p> <p>#FFFF33 rgb(255, 255, 51)</p> <p>#FFFF00 rgb(255, 255, 0)</p>	6	 <p>#FFFFCC rgb(255, 255, 204)</p>	 <p>#FFFF99 rgb(255, 255, 153)</p>

Keterangan : * Spektrum Perubahan Warna Berdasarkan *Color Charts* pada 216 *Web Safe Color* dengan sistem *Hexadecimal Notation / RGB triplet*
Sumber : websafecolors.info

Perubahan warna pada minyak merupakan indikasi visual dari tinggkat kerusakan minyak karena proses oksidasi. Menurut Abdulkarim *et al.* (2007), meningkatnya intensitas warna pada minyak disebabkan oleh akumulasi dari produk dekomposisi non-volatil seperti asam lemak bebas (*Free Fatty Acid*).

4.2 Uji Perubahan Viskositas

Nilai viskositas pada sampel minyak kelapa meningkat seiring dengan lamanya pemanasan. Peningkatan nilai viskositas disebabkan oleh pembentukan polimer (proses polimerisasi minyak) dengan berat molekul lebih tinggi yang

terjadi selama peningkatan suhu penggorengan (Peled *et al.*, 1975). Berdasarkan penelitian Abdulkarim *et al.* (2007), perubahan viskositas memiliki korelasi positif dengan nilai Total Molekul Polimer (TPM) selama periode pemanasan. Polimer yang terbentuk akan mempercepat degradasi lebih lanjut pada minyak yang berakibat pada meningkatnya viskositas minyak.

Tabel 5. Hasil Uji Viskositas Minyak Kelapa dengan Penambahan 0,01% Ekstrak Daun Teh Hitam dengan Perlakuan Pemanasan

Waktu Pemanasan (Jam)	Viskositas Kontrol (dPa.s)	Viskositas Sampel (dPa.s)
0	0,527 ± 0,0028	0,528 ± 0,0028
6	0,533 ± 0,0057	0,533 ± 0,0057

Keterangan : Rerata ± SD (n=3)

5. Efisiensi Antioksidan dari Ekstrak Kasar Daun Teh Hitam

Efisiensi antioksidan dinyatakan sebagai perbandingan waktu induksi minyak yang mengandung antioksidan dengan waktu induksi minyak tanpa antioksidan. Waktu induksi merupakan waktu yang dibutuhkan oleh minyak dari tahap awal oksidasi hingga mencapai ketengikan pada minyak (Tensiska *et al.*, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian, efisiensi antioksidan dari ekstrak kasar daun teh hitam adalah sebesar 1,5. Hal ini berarti bahwa penambahan ekstrak kasar daun teh hitam pada minyak kelapa dapat memperpanjang waktu terbentuknya radikal peroksida sebesar 1,5 kali lebih lambat daripada minyak kelapa kontrol. Hasil ini sesuai dengan penelitian Tensiska *et al.* (2003) yang mengamati efisiensi penambahan antioksidan dari ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol dari buah andaliman pada minyak kedelai murni dan memperoleh hasil bahwa penambahan ekstrak buah andaliman dapat memperpanjang waktu induksi hingga 1,18 dan 1,13 kali lebih lambat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ekstrak daun teh hitam sebagai antioksidan alami minyak kelapa dapat disimpulkan bahwa

1. Pelarut terbaik untuk mengekstrak antioksidan dari daun teh hitam adalah Etanol 96% dengan aktivitas penghambatan terhadap radikal bebas DPPH sebesar 75,01%.
2. Penambahan ekstrak kasar daun teh hitam sebanyak 0,01% dapat mengurangi terbentuknya peroksida dan produk oksidasi sekunder pada sampel minyak kelapa yang diberi perlakuan untuk mempercepat ketengikan.
3. Efisiensi antioksidan dari ekstrak kasar daun teh hitam dalam mencegah kerusakan sampel minyak kelapa adalah sebesar 1,5.

Saran

1. Analisis lebih lanjut terhadap perubahan biokimiawi pada minyak kelapa seperti pengujian asam lemak bebas untuk mengetahui kadar asam lemak bebas yang terbentuk akibat proses hidrolisis pada minyak kelapa yang diberi perlakuan untuk mempercepat ketengikan.
2. Analisis lebih lanjut terhadap senyawa dalam ekstrak kasar daun teh hitam yang berkontribusi sebagai antioksidan dalam menghambat ketengikan minyak kelapa selama pemanasan, sehingga dapat diketahui jenis antioksidan yang berpotensi dalam memberikan efek antioksidatif.
3. Agar dapat mengetahui potensi efektivitas antioksidan dari ekstrak kasar daun teh hitam, perlu dilakukan perbandingan dengan antioksidan sintetik seperti BHA atau BHT.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkarim, S. M., Long, K., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S. and Ghazali, H. M. 2007. 'Frying Quality and Stability of High Oleic *Moringa oleifera* Seed Oil in Comparison with Other Vegetable Oils'. *Article in Food Chemistry*.
- Amarowicz, R, Naczek, M, dan Shahidi, F. 2000. 'Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls'. *JAACS* 77: 957-961.
- Aqil, F., Ahmad, I., and Mehmood, Z. 2006. 'Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Plants'. *Turk J Biol.* 30:177-183.
- Asni, N. dan Yanti, L. 2014. 'Identifikasi dan Analisis Mutu Minyak Kelapa di Tingkat Petani Provinsi Jambi'. *Prosiding Konferensi Nasional Kelapa VIII, 2014*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Jambi.
- Asriani, D. 2006. 'Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Mutu dan Umur Simpan Minyak Kelapa Murni'. Skripsi : Institut Pertanian Bogor.
- Ayucitra, A., Indraswati, N., Mulyandasari, V., Dengi, Y. K., Fransisco, G., dan Yudha, A. 2011. 'Potensi Senyawa Fenolik Bahan Alam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Goreng Nabati'. *Widya Teknik* Vol. 10, No. 1.
- Basmar, A. 2008. 'Arahan Pengembangan Kawasan Usaha Agro Terpadu Berbasis Komoditas Kelapa di Kabupaten Lampung Barat'. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Dewi, P. P., Hidayat, R., dan Permatasari, R. 2009. 'Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Teh Komersial serta Korelasinya dengan Kandungan Total Fenol'. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Erawati. 2012. 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garciniadaedalanthera* Pierre Dengan Metode DPPH (1,1-difenil pikrilhidrazil) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Paling Aktif'. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Sarjana Ekstensi Farmasi Depok.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., and Viranco, J. M. 2003. 'Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian *Ocimum* Accessions'. *J Food Chem* 83:547-550.
- Kumar, P. K. P. and Krishna, A. G. G. 2015. 'Physicochemical Characteristics of Commercial Coconut Oils Produced in India'. *Grasas Y Aceites* 66(1).
- Kuroda, Y. and Hara, Y. 1999. 'Antimutagenic and Anticarcinogenic Activity of Tea Polyphenols'. *Mutat Res* 436: 69-97.
- Langseth, L. 1995. 'Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention'. *ILSI Europe*. Belgium.

- Ligor, M., Kornysova, O., Maruska, A. and Buszewski, B. 2008. 'Determination of Flavonoids in Tea and Rooibos Extracts by TLC and HPLC'. *Journal of Planar Chromatography* Vol. 21, pp. 355-360.
- Marina, A. M., Wan Rosli, W. I., and Neoh, S. L. 2014. 'Frying Quality of Virgin Coconut Oil as Affected by *Zea mays* Extract'. *Sains Malaysiana* 43(9): 1311-1315.
- Mutiara, E. V., Sulistyowati, E., dan Pertiwi, H. T. 2009. 'Pengaruh Ekstrak Etanol Bekatul Padi (*Oryza sativa* L.) terhadap Penghambatan Ketengikan Minyak dibandingkan dengan Antioksidan Sintetik BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*)'. *Media Farmasi Indonesia* Vol 4, No. 1.
- Navas, P. B., Carrasquero-Duran, A., and Flores, I. 2006. 'Effect of Black Tea, Garlic and Onion on Corn Oil Stability and Fatty Acid Composition Under Accelerated Oxidation'. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 243-247.
- Nor, F. M., Mohamed, S., Idris, N. A. and Ismial, R. 2008. 'Antioxidative Properties of *Pandanus amaryllifolius* Leaf Extracts in Accelerated Oxidation and Deep Frying Studies'. *Food Chemistry* 110: 319-327.
- Peled, M. T., Gutfinger and Letan, A. 1975. 'Effect of Water and BHT on Stability of Cottonseed Oil During Frying'. *J Sci Food Agric* 26: 1655-1666.
- Rajaei, A., Barzegar, M., and Sahari, M. A. 2008. 'Comparison of Antioxidative Effect of Tea and Sesame Seed Oils Extracted by Different Methods'. *J. Agric. Sci. Technol* Vol. 10: 345-350.
- Shahidi, F. and Wanasundara, U. 2002. *Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils*. New York : Marcel Dekker.
- Sudarmaji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Penerbit Liberty.
- Tensiska, Wijaya, H. C., dan Andarwulan, N. 2003. 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) dalam Beberapa Sistem Pangan dan Kestabilan Aktivasnya Terhadap Kondisi Suhu dan pH'. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan* Vol XIV No. 1.
- Tomsone, L., Kruma, Z., and Galoburda, R. 2012. 'Comparison of Different Solvents and Extraction Methods for Isolation of Phenolic Compounds from Horseradish Root (*A Armoracia rusticana*)'. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* Vol 6. No. 4.
- Uzunalic, A. P., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F., and Gruner, S. 2005. 'Extraction of Active Ingredients from Green Tea (*Camellia sinensis*): Extraction Efficiency of Major Catechins and Caffeine'. *Food Chemistry* 96: 597-605.