

APLIKASI FOSFAT PADA PROSES EKSTRAKSI TEH HIJAU UNTUK MINUMAN TEH HIJAU SIAP MINUM

[Phosphate Application in Green Tea Extraction Process for Ready To Drink (RTD) Green Tea]

Rima Hidayati¹⁾, Nuri Andarwulan^{2,3)*}, dan Dian Herawati^{2,3)}

¹⁾ Program Studi Magister Teknologi Pangan, Sekolah Pascasarjana, IPB University, Bogor

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor

³⁾ South East Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFASST) Center, IPB University, Bogor

Diterima 5 Agustus 2020 / Disetujui 22 Maret 2021

ABSTRACT

Color is one of quality parameters that affects consumer intention to purchase ready to drink (RTD) green tea. Consumers expect RTD green tea to have yellow greenish color, however the color becomes brown and darker during the shelf life. This study aimed to evaluate the effect of phosphate mix addition to water prior to green tea leaves extraction on pH, color, and the tannin in tea extract, pre-RTD, and RTD during incubation period at 60°C for 2 days. The pre-RTD contained tea extract, sugar, and ascorbic acid. Addition of sodium bicarbonate was done in pre-RTD to obtain RTD with pH of 6.1±0.2. The type of phosphate used was sodium acid pyrophosphate (SAPP) and phosphoric acid. The concentrations of SAPP were 650 and 1300 mg/L, while those of phosphoric acid were 125, 250, and 500 mg/L. The total phosphorous added from the combination of SAPP and phosphoric acid was 221-521 mg/L. Meanwhile, green tea extracted without phosphate was used as a control. The results showed that phosphate addition to water prior to green tea extraction caused decrease in pH of tea extract from 5.83±0.18 to 2.8-3.8, decrease in browning intensity, and reduced tannin degradation during the incubation period. Sugar and ascorbic acid added to the tea extract resulted in pH in all samples <4.0 and maintained the lightness of the pre-RTD. Phosphate application was not able to retain the color of RTD after incubation period. This study showed that addition of phosphorous as a combination of SAPP and phosphoric acid to water at concentrations of 221-521 mg/L prior to green tea extraction had positive impact in reducing browning intensity of RTD green tea with pH of lower than 4.0.

Keywords: color, green tea extraction, pH, phosphate, RTD

ABSTRAK

Warna merupakan salah satu parameter mutu yang memengaruhi keputusan konsumen untuk membeli minuman teh hijau siap minum. Konsumen memiliki ekspektasi bahwa teh hijau siap minum berwarna kuning kehijauan, tetapi kenyataannya selama penyimpanan warnanya berubah menjadi cokelat dan lebih gelap. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek penambahan fosfat pada air pengekstrak sebelum proses ekstraksi teh hijau terhadap pH, warna, dan tanin ekstrak teh, pre-*ready to drink* (pre-RTD) dan RTD hingga masa inkubasi pada suhu 60°C selama 2 hari. Pre-RTD terdiri dari ekstrak teh, gula, dan asam askorbat. Penambahan natrium bikarbonat pada pre-RTD dilakukan untuk mendapatkan RTD dengan pH 6,1±0,2. Jenis fosfat yang digunakan yaitu *sodium acid pyrophosphate* (SAPP) dan asam fosfat. Konsentrasi SAPP yang digunakan yaitu 650 dan 1300 mg/L, sedangkan konsentrasi asam fosfat yang digunakan yaitu 125, 250, dan 500 mg/L. Jumlah fosfor yang diperoleh dari campuran SAPP dan asam fosfat tersebut yaitu 221-521 mg/L. Teh hijau yang diekstraksi tanpa fosfat disebut sebagai kontrol. Hasil penelitian menunjukkan penambahan fosfat pada air pengekstrak sebelum proses ekstraksi teh hijau dapat menurunkan pH ekstrak teh dari 5,83±0,18 menjadi 2,8-3,8, menurunkan intensitas pencokelatan, dan mengurangi degradasi tanin hingga setelah masa inkubasi. Gula dan asam askorbat yang ditambahkan pada ekstrak teh dapat membuat pH semua sampel <4,0 dan mempertahankan kecerahan pre-RTD. Aplikasi fosfat tidak dapat mempertahankan stabilitas warna RTD setelah masa inkubasi. Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan fosfor pada air pengekstrak dengan jumlah 221-521 mg/L yang berasal dari campuran SAPP dan asam fosfat sebelum proses ekstraksi teh hijau dapat memperlambat pencokelatan minuman teh hijau RTD yang memiliki pH di bawah 4,0.

Kata kunci: ekstraksi teh hijau, fosfat, pH, RTD, warna

PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan salah satu bahan penyegar yang banyak dikonsumsi oleh konsumen Indonesia. Data Kemendag (2015) menunjukkan teh memiliki pangsa pasar (*product share*) 30% dalam industri minuman lokal. Meningkatnya jumlah populasi muda di Indonesia yang memiliki banyak aktivitas namun waktu yang terbatas untuk menyiapkan teh, memacu pertumbuhan industri minuman teh siap minum (RTD). Penelitian Briawan *et al.* (2011) menyebutkan bahwa teh kemasan merupakan minuman yang paling disukai selain air putih oleh 13,8% remaja di Jakarta dan 26,8% remaja di Bandung.

Berdasarkan tingkat fermentasinya, teh dapat dikategorikan menjadi teh hijau, teh oolong, dan teh hitam (Chan *et al.*, 2011). Teh hijau mengandung polifenol yang tinggi yang dapat berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah kanker (Forester dan Lambert, 2011). Kandungan epigallocatekin galat (EGCG) pada teh hijau juga dapat berperan sebagai anti bakteri, anti virus, serta melindungi dari hipertensi dan penyakit jantung (Pastoriza *et al.*, 2017). Minuman teh hijau RTD dalam kemasan botol *polyethylene terephthalate* (PET) merupakan salah satu alternatif bagi konsumen untuk mengonsumsi dan mendapatkan manfaat kesehatan dari teh hijau.

Aspek sensori memegang peranan penting dalam pemilihan produk. Warna merupakan karakter sensori pertama yang dinilai oleh konsumen. Minuman teh hijau RTD diharapkan berwarna kehijauan atau kuning kehijauan, tanpa adanya warna kemerahan atau kecokelatan. Warna hijau pada daun teh dan ekstrak teh utamanya ditentukan oleh kandungan klorofil dan rasio klorofil A (hijau gelap) dengan klorofil B (hijau kekuningan) (Chaturvedula dan Prakash, 2011). Faktanya, seiring bertambahnya waktu penyimpanan, warna RTD teh hijau berubah menjadi cokelat gelap. Pencokelatan selama penyimpanan pada minuman teh termasuk dalam pencokelatan non enzimatis, yang penyebab utamanya adalah autooksidasi dan perubahan struktur flavanol. EGCG dan flavanol merupakan senyawa fenolik pada teh hijau yang dapat menyebabkan reaksi pencokelatan jika dipanaskan (Dai *et al.*, 2017). Katekin berwarna kuning saat dilarutkan dalam air dan warna kuning semakin cepat terlihat dengan meningkatnya pH air (Bark *et al.*, 2011). EGCG dan epigallocatekin (EGC) juga berperan penting dalam perubahan warna dan rasa pada teh hijau selama proses penyimpanan. Semakin lama waktu penyimpanan, kandungan EGCG memiliki kecenderungan untuk menurun, dan penurunannya semakin signifikan saat minuman teh hijau RTD disimpan pada suhu tinggi dan terpapar cahaya. Penelitian Baik *et al.* (2021) menunjukkan teh hijau

RTD yang terpapar cahaya fluoresens selama penyimpanan mengalami degradasi EGCG yang lebih tinggi signifikan serta memiliki aroma/rasa yang berbeda signifikan saat dikemas dalam botol gelas tanpa pelindung cahaya dibandingkan teh hijau RTD yang dilapisi pelindung cahaya (aluminium foil) pada kemasannya. Bahan kemasan dengan kecepatan transmisi oksigen yang berbeda juga dapat memengaruhi stabilitas teh RTD, karena adanya hubungan antara permeabilitas oksigen dengan degradasi polifenol (Kim *et al.*, 2011).

Pencegahan perubahan warna dapat dilakukan dengan mengurangi reaksi oksidasi, mengkelat logam, atau melindungi polifenol. Beberapa penelitian telah mengaplikasikan bahan tambahan pangan untuk mencegah reaksi pencokelatan pada minuman teh, diantaranya menggunakan asam sitrat dan asam askorbat (Wang *et al.*, 2003). Penelitian Vuong *et al.* (2013) menyebutkan untuk meminimalisasi degradasi katekin dan memaksimalkan hasil ekstraksi, maka pH pada proses ekstraksi dijaga pada kondisi asam, yaitu kisaran pH 3,0-5,3. Semakin tinggi pH, maka kandungan katekin utama (epikatekin (EC), ECG, EGC, EGCG) akan terdegradasi dan mengalami epimerisasi (Li *et al.*, 2012).

Salah satu bahan tambahan pangan yang sudah banyak digunakan untuk mencegah perubahan warna pangan adalah fosfat. Selain mencegah perubahan warna, fosfat memiliki fungsi diantaranya mencegah *off-flavor* (citarasa menyimpang) pada sayur dan buah. Fosfat dapat berperan sebagai penukar ion, sehingga membentuk kompleks yang larut dengan ion polivalen yang keberadaannya dapat mengganggu proses pengolahan pangan. Kemampuan membentuk kompleks dengan ion logam tidak bergantung dengan panjang rantai polifosfat, namun kekuatan kompleks akan semakin meningkat dengan meningkatnya panjang rantai (Ellinger, 2018).

Aplikasi fosfat pada proses ekstraksi teh telah dilakukan oleh Xu *et al.* (2010) dan Zimmermann dan Gleichenhagen (2011). Penelitian Xu *et al.* (2010) menunjukkan bahwa aplikasi fosfat dalam bentuk sodium heksametafosfat (SHMP) dapat mencegah kekeruhan dan pengendapan minuman teh selama penyimpanan. Aplikasi bufer fosfat pada pH 3,0 dan 4,8 saat proses ekstraksi teh juga dapat meningkatkan konsentrasi flavanol teh hingga 20% (Zimmermann dan Gleichenhagen, 2011). Fosfat dalam bentuk *sodium acid pyrophosphate* (SAPP) telah diaplikasikan dalam penelitian Hasan (2017). Penelitian tersebut menunjukkan kombinasi antara (SAPP) dengan asam askorbat dapat mencegah kerusakan antioksidan pada ubi jalar ungu. Menurut Ellinger (2018), SAPP dapat mencegah pencokelatan kentang setelah dimasak.

SAPP merupakan fosfat dalam bentuk dimer yang termasuk dalam bahan tambahan pangan (BTP) kategori pengatur keasaman, pengembang, dan sekuestran (FAO, 2019). Berdasarkan BPOM (2019), SAPP termasuk BTP kategori garam penstabil, penstabil, dan pengemulsi. Dalam 1% air, SAPP memiliki pH 3,7-5,0. Asam fosfat merupakan BTP yang memiliki fungsi sebagai pengatur keasaman. Jumlah maksimum konsumsi SAPP dan asam fosfat dalam sehari tanpa menimbulkan efek merugikan terhadap kesehatan dihitung dari nilai *maximum tolerable daily intake* (MTDI). Nilai MTDI senyawa fosfat sebesar 70 mg/kg berat badan sebagai total fosfor.

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh penambahan fosfat yang terdiri dari *sodium acid pyrophosphate* (SAPP) dan asam fosfat pada air pengekstrak sebelum proses ekstraksi teh hijau terhadap stabilitas warna, pH, dan tanin teh hijau dengan berbagai formulasi. Pemilihan SAPP dan asam fosfat sebagai senyawa pengekstrak disebabkan kombinasi SAPP dan asam fosfat dapat menurunkan pH air pengekstrak hingga pH sekitar 3,0, serta SAPP memiliki kemampuan untuk mengikat ion-ion logam dalam air yang keberadaannya dapat menurunkan aktivitas antioksidan polifenol. Formulasi yang dianalisis yaitu ekstrak teh hijau, ekstrak teh hijau yang ditambah gula dan asam askorbat (pre-RTD), serta pada ekstrak teh hijau yang mengandung gula, asam askorbat, dan natrium bikarbonat (RTD).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bahan utama daun teh hijau *grade* Pekoe (PT KBP Chakra, Indonesia), *sodium acid pyrophosphate* (SAPP) INS 450 (i) (Reephos Chemical, China), asam fosfat INS 338 (Megah Abadi Kimia, Indonesia), air *reverse osmosis* (RO), gula rafinasi *grade* R1 (PT Sugar Labinta, Indonesia), asam askorbat INS 300 (CSPC Weisheng Pharmaceutical, China), dan natrium bikarbonat INS 500 (ii) (Natural Soda, USA)

Perhitungan jumlah fosfor

Jumlah fosfor pada penelitian ini diperoleh berdasarkan perhitungan perbandingan berat atom (Ar) fosfor dengan berat molekul (Mr) masing-masing SAPP dan asam fosfat, yang kemudian dikalikan dengan konsentrasi masing-masing SAPP dan asam fosfat yang ditambahkan. Cara perhitungan jumlah fosfor tersebut dapat dilihat pada persamaan (1) dan (2). Total fosfor diperoleh dari jumlah fosfor pada SAPP dan asam fosfat. Fosfor (P) memiliki berat atom 31 g/mol. SAPP (INS 450 (i))

memiliki rumus kimia $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, dengan berat molekul 221,94 g/mol. Rumus kimia asam fosfat atau asam ortofosfat (INS 338) adalah H_3PO_4 dengan berat molekul 97,994 g/mol. Berdasarkan cara perhitungan tersebut, jumlah fosfor yang digunakan sebagai larutan pengekstrak pada penelitian ini berkisar antara 221 hingga 521 mg/L. Jumlah tersebut sudah sesuai dengan batas maksimum penggunaan fosfor pada minuman teh, yaitu maksimum 1300 mg/kg (BPOM, 2019).

Jumlah Fosfor dalam SAPP=

$$\frac{\text{Ar P}}{\text{Mr SAPP}} \times \text{dosis SAPP} \dots\dots\dots (1)$$

Jumlah Fosfor dalam Asam Fosfat=

$$\frac{\text{Ar P}}{\text{Mr asam fosfat}} \times \text{dosis asam fosfat} \dots\dots\dots (2)$$

Ekstraksi teh hijau (Xu et al., 2010 dengan modifikasi)

Daun teh hijau 5 g diekstraksi dengan larutan pengekstrak yang terdiri dari air yang sudah diproses osmosis terbalik/*reverse osmosis* (RO) 150 g dengan atau tanpa campuran fosfat pada *hot plate stirrer* (ThermoScientific, Cina) dengan suhu 75-80°C selama 10 menit. Selama 3 menit pertama proses ekstraksi, larutan diaduk dengan kecepatan 4, kemudian tidak diaduk pada menit selanjutnya. Campuran fosfat terdiri dari SAPP dan asam fosfat dengan konsentrasi SAPP yang digunakan yaitu S1 (650 mg/L) dan S2 (1300 mg/L). Konsentrasi asam fosfat yang digunakan yaitu A1 (125 mg/L), A2 (250 mg/L), dan A3 (500 mg/L). Campuran SAPP dan asam fosfat tersebut menghasilkan 6 perlakuan fosfat yaitu A1S1, A2S1, A3S1, A1S2, A2S2, dan A3S2. Ekstrak teh disaring dengan ayakan *stainless steel* ukuran 80 mesh (Tokyo Screen Co. Ltd, Jepang) untuk memisahkan antara ampas daun dengan ekstrak teh. Ekstrak teh kemudian disaring lagi dengan *vacuum pump* (Winlab WLH-85DL, Jerman) dan kertas saring No.2 (Advantec, Jepang) untuk mendapatkan ekstrak teh yang lebih jernih.

Pre- formulasi RTD (Xu et al., 2010)

Ekstrak teh hijau yang sudah diekstraksi dengan dan tanpa fosfat ditambah dengan gula dan asam askorbat saat tahap pencampuran. Sampel yang tersusun atas komposisi tersebut disebut pre-RTD. Pre-RTD dibuat untuk mengamati parameter ekstrak teh setelah ditambah gula dan asam askorbat dan sebelum ditambahkan natrium bikarbonat. Jumlah gula dan asam askorbat yang ditambahkan pada semua sampel adalah sama, yaitu masing-masing 60 g/L dan 200 mg/L.

Formulasi RTD (Xu *et al.*, 2010)

Minuman RTD teh hijau tersusun atas ekstrak teh yang diekstraksi dengan dan tanpa fosfat, asam askorbat, gula, dan natrium bikarbonat. Jumlah gula dan asam askorbat yang ditambahkan sama seperti pre-RTD, sedangkan jumlah natrium bikarbonat yang ditambahkan pada setiap sampel berbeda-beda, namun semua sampel memiliki pH RTD yang sama, yaitu $6,1 \pm 0,2$. Penambahan Na-bikarbonat pada RTD bertujuan untuk meningkatkan pH sehingga mendekati netral. Nilai pH sampel RTD dibuat pada kisaran tersebut disebabkan konsep RTD teh hijau dalam penelitian ini adalah teh hijau original, bukan RTD teh hijau rasa buah yang memiliki $pH < 4,0$.

Preparasi sampel

Sampel ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD masing-masing ditambah dengan air RO hingga volumenya 1 L. Sampel ekstrak teh tersebut diperoleh dari seluruh hasil ekstraksi 5 g daun teh hijau dalam 150 g air RO. Sampel dipanaskan hingga suhunya $90-95^{\circ}\text{C}$, kemudian diisikan pada botol *hot filling* (isi-panas) PET 350 mL. Setelah proses *hot filling* (isi-panas) ke dalam kemasan, produk ditutup, dibalik posisinya, ditinggalkan selama 2-3 menit, kemudian didinginkan (Hariyadi, 2013).

Keberadaan oksigen pada *head space* (ruang kosong) produk dan transmisi oksigen selama penyimpanan disimulasikan dengan memindahkan sampel yang telah diproses *hot filling* (isi-panas) ke botol aseptik PET dengan volume yang lebih sedikit dari kapasitas *brimful* (penuh) botol. Botol aseptik PET yang digunakan memiliki kapasitas *brimful* 375,5 mL dan *oxygen transmission rate* (OTR) sebesar 0,066447 cc/hari/kemasan. Volume sampel pada penyimpanan suhu ruang pada botol aseptik PET adalah 330 mL, sehingga *head space* pada kondisi normal adalah 45,5 mL. Pada penelitian ini, sampel disimulasikan mengalami transmisi oksigen seperti penyimpanan selama 60 hari pada suhu ruang, sehingga jumlah transmisi oksigennya yaitu 3,99 cc. Persentase oksigen di dalam udara yaitu 21%, sehingga total udara yang masuk pada kondisi tersebut yaitu 18,98 cc. Total transmisi udara pada kondisi inkubasi adalah 64,48 cc. Berdasarkan perbandingan volume sampel dengan volume udara pada kondisi normal dan inkubasi, maka diperoleh volume sampel yang dipindahkan ke botol aseptik PET yaitu 314 mL. Sampel tersebut kemudian diinkubasi pada inkubator (Winlab INC 300D, Jerman) pada suhu 60°C selama 2 hari. Suhu inkubasi tersebut mengacu pada Nagai dan Sato (2001).

Analisis pH dan warna

Alat pH meter (Horiba F-71 A, Jepang) digunakan untuk mengukur nilai pH sampel pada suhu 28°C . Analisis warna dilakukan dengan mengukur

absorbans sampel dengan spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U2900, Jepang) pada panjang gelombang 420 nm. Berdasarkan Liu *et al.* (2019), panjang gelombang 420 nm dapat digunakan sebagai indikator pencokelatan. Selain itu, dilakukan pengukuran nilai L^* , a^* , dan b^* dengan colorimeter (Hunterlab Colorflex EZ, USA). Berdasarkan sistem pewarnaan CIE $L^*a^*b^*$, nilai L^* yang semakin tinggi menunjukkan sampel semakin cerah, sedangkan semakin rendah menunjukkan sampel semakin gelap. Data $L^*a^*b^*$ dari pengukuran colorimeter kemudian diolah untuk mendapatkan nilai $^{\circ}\text{Hue}$ (H^*) dan Chroma (C^*). Nilai H^* diperoleh dengan $\arctan [b^*/a^*]$, sedangkan nilai C^* diperoleh dengan $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$. Nilai C^* menggambarkan tingkat saturasi/kepekatan warna, sedangkan nilai H^* menggambarkan jumlah relatif merah dan kuning. Semakin rendah nilai H^* maka sampel semakin merah (Kortei *et al.*, 2015).

Analisis tanin (Iwasa, 1975)

Sampel teh direaksikan dengan reagen *ferrous tartrate* dan bufer fosfat pH 7,5. Reagen *ferrous tartrate* terdiri dari campuran *ferrous sulphate heptahydrate* (Merck, Jerman) dan *sodium potassium tartrate tetrahydrate* (Merck, Jerman). Bufer fosfat terdiri dari campuran *disodium hydrogen phosphate* (Merck, Jerman) dan *potassium dihydrogen phosphate* (Merck, Jerman). Pengukuran tanin dilakukan dengan memipet sampel teh atau etil galat (Merck, Jerman) sebanyak 1 mL ke dalam labu volumetrik 25 mL. Sampel kemudian direaksikan dengan 5 mL reagen *ferrous tartrate* dan ditambahkan dengan bufer fosfat pH 7,5 hingga volumenya 25 mL. Sampel lalu diukur nilai absorbansnya pada panjang gelombang 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Hitachi U2900, Jepang) setelah 2 menit reaksi. Konsentrasi tanin sampel dihitung berdasarkan kurva standar etil galat. Absorbans 1 mg etil galat setara dengan 1,5 mg tanin.

Analisis data (McHugh, 2011)

Penelitian ini dilakukan dengan dua kali ulangan. Analisis data dilakukan pada sampel ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD sebelum *hot filling*, setelah *hot filling* (sebelum inkubasi), dan setelah inkubasi. Analisis data sebelum *hot filling* bertujuan mengamati parameter pada sampel sebelum terpapar oleh panas. Data yang diperoleh kemudian diuji korelasi Pearson antara jumlah fosfor yang digunakan dengan parameter yang diamati setelah inkubasi. Selain itu, untuk melihat signifikansi parameter yang diamati pada setiap perlakuan, data dianalisis dengan *one way analysis of variance* (analisis ragam satu arah)/ANOVA software IBM SPSS versi 16.0. Jika terdapat perbedaan yang nyata pada taraf kepercayaan 95%, maka dilakukan uji lanjut Tukey untuk membandingkan signifikansi pada setiap konsentrasi campuran fosfat. Ketiga

jenis sampel (ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD) merupakan kelompok yang berbeda dan dianalisis statistik pada masing-masing kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh jumlah fosfor terhadap pH ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD

Nilai pH dan jumlah fosfor yang digunakan dalam larutan pengeksrak dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa pH larutan pengeksrak yang mengandung campuran fosfat berkisar 2,6-3,0. Terdapat tiga kelompok sampel yang berbeda signifikan berdasarkan nilai pH. Sampel dengan jumlah asam fosfat yang berbeda tetapi jumlah SAPP yang sama memiliki pH yang berbeda signifikan. Berdasarkan total fosfor, terdapat dua kelompok sampel yang berbeda signifikan. Sampel dengan jumlah asam fosfat yang sama dengan SAPP berbeda memiliki pH yang tidak berbeda signifikan, tetapi memiliki total fosfor yang berbeda signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan asam fosfat dalam penelitian ini berpengaruh signifikan terhadap penurunan pH, sementara SAPP berpengaruh signifikan terhadap penambahan total fosfor pada air pengeksrak.

Tabel 1. Komposisi larutan pengeksrak

Sampel	Dosis (mg/L)		pH Larutan Pengeksrak	Total Fosfor (mg/L)
	SAPP	Asam Fosfat		
Kontrol	-	-	6,5-8,5	-
A1	-	125	3,0±0,1	39,5
A2	-	250	2,8±0,0	79,0
A3	-	500	2,6±0,1	158,0
S1	650	-	4,8±0,1	181,5
S2	1300	-	4,7±0,4	363,0
A1S1	650	125	3,0±0,0 ^a	221,0 ^b
A2S1	650	250	2,9±0,0 ^b	260,5 ^b
A3S1	650	500	2,6±0,0 ^c	339,5 ^b
A1S2	1300	125	3,2±0,0 ^a	402,5 ^a
A2S2	1300	250	2,9±0,0 ^b	442,0 ^a
A3S2	1300	500	2,7±0,0 ^c	521,0 ^a

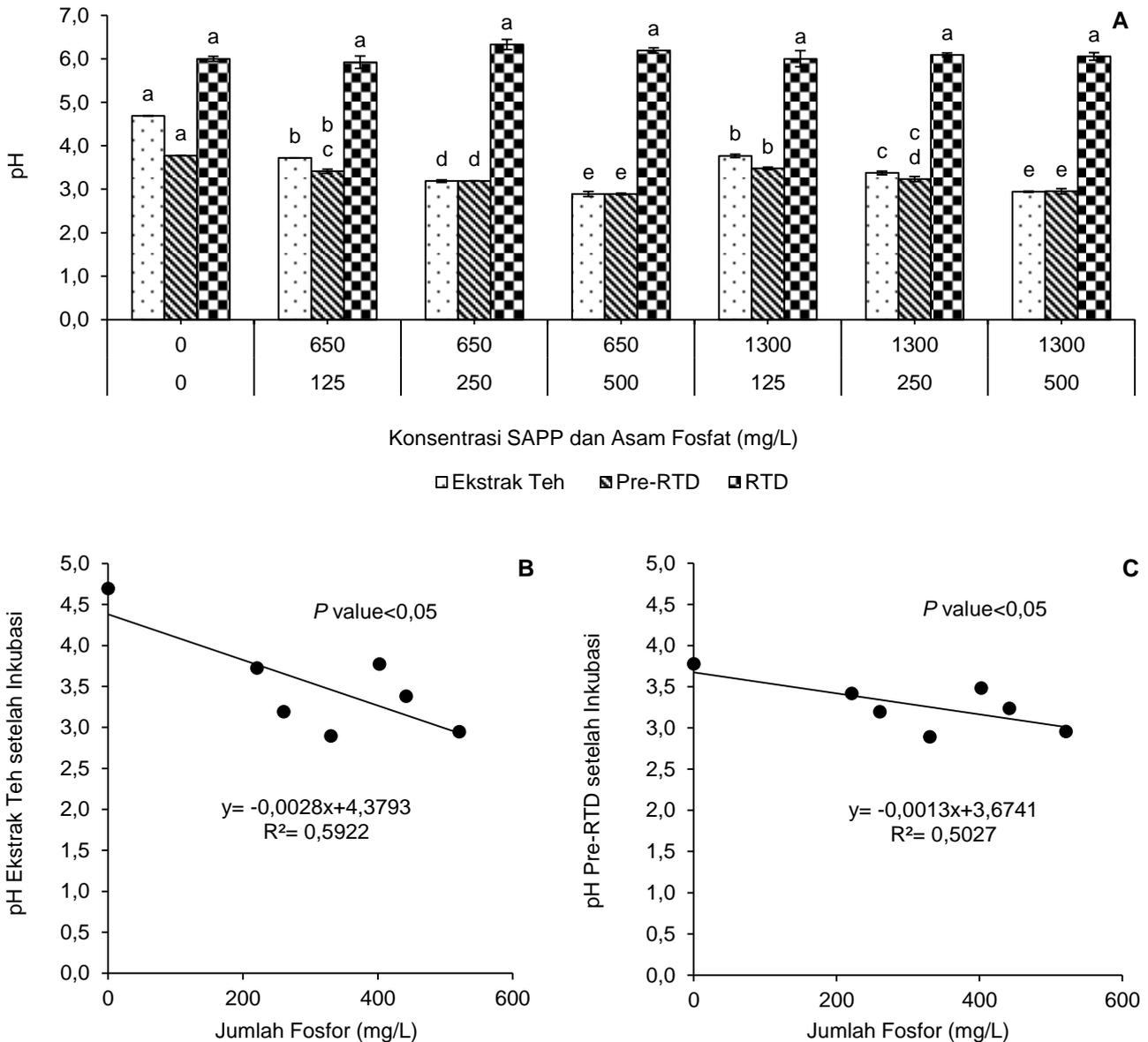
Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$

Asam fosfat digunakan dalam penelitian Choung dan Lee (2011) untuk membuat kondisi ekstraksi teh hijau menjadi asam, sehingga reaksi penyebab ketidakstabilan katekin dapat dihambat. Berdasarkan penelitian Zeng *et al.* (2016), kondisi pH asam dapat membuat katekin stabil, dan reaksi epimerisasi, degradasi, maupun polimerisasi dapat menurun. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa katekin stabil dalam pH 3,0 dan suhu 100°C. Berdasarkan Zimmermann dan Gleichenhagen

(2011), pH memiliki peranan penting dalam efisiensi ekstraksi karena perubahan struktur flavanol diperlambat dengan menurunnya pH. Penelitian Spiro dan Price (1987) menunjukkan bahwa pH yang semakin asam dapat meningkatkan konsentrasi theaflavin yang terekstrak pada teh hitam. Hal tersebut dapat disebabkan ion hidrogen dapat memecah struktur daun dan/atau memecah ikatan pada theaflavin yang terperangkap, sehingga dapat membuka struktur daun yang biasanya tidak dapat diakses.

Gambar 1 menunjukkan pH ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi. Nilai pH merupakan skala yang menunjukkan konsentrasi ion hidrogen dalam suatu larutan. Ion hidrogen yang dimiliki oleh asam fosfat dan SAPP berkontribusi terhadap penurunan nilai pH larutan pengeksrak. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa ekstrak teh yang diekstraksi dengan fosfat memiliki pH yang lebih rendah dan berbeda signifikan dengan ekstrak teh tanpa fosfat, baik setelah ekstraksi, setelah proses *hot filling*, dan setelah inkubasi. Setelah ekstraksi, penambahan fosfor 521 mg/L mampu menurunkan pH ekstrak dari 5,83±0,18 menjadi 2,93±0,04. Berdasarkan uji korelasi Pearson, terdapat korelasi signifikan yang negatif antara jumlah fosfor dengan pH ekstrak teh setelah inkubasi ($r = -0,768$). Penelitian Vuong *et al.* (2013) menunjukkan bahwa pH ekstraksi sangat berpengaruh terhadap stabilitas katekin. Katekin yang diekstrak pada kondisi asam meningkatkan stabilitas EGCG, EGC, dan ECG.

Pada pre-RTD, terlihat bahwa terdapat perbedaan pH yang signifikan antara sampel kontrol dengan perlakuan fosfat hingga setelah sampel diinkubasi. Penambahan asam askorbat pada sampel kontrol mampu menurunkan pH ekstrak teh hingga pH 4,0. Adanya penambahan asam askorbat pada semua sampel, baik sampel kontrol maupun perlakuan fosfat, membuat pH pre-RTD sebelum proses *hot filling* berada pada kisaran 2,8-4,0. Semakin tinggi jumlah fosfor yang ditambahkan, maka pH pre-RTD semakin rendah. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya korelasi signifikan yang negatif antara jumlah fosfor dengan pH pre-RTD setelah inkubasi ($r = -0,722$). Berdasarkan Li *et al.* (2012), pH 4,0 merupakan pH optimum untuk menjaga stabilitas katekin konfigurasi cis (EGCG, EGC, ECG, dan EC). Semakin tinggi pH, katekin semakin terdegradasi, namun pH yang terlalu rendah juga dapat meningkatkan degradasi katekin. Saat diformulasikan sebagai RTD, terdapat penambahan natrium bikarbonat pada semua sampel, sehingga pH sampel berada pada kisaran 6,1±0,2. Hal tersebut menyebabkan pH RTD pada semua perlakuan tidak berbeda signifikan hingga setelah RTD diinkubasi.



Gambar 1. pH ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dengan penambahan berbagai konsentrasi SAPP dan asam fosfat (A). Korelasi jumlah fosfor dengan pH setelah inkubasi pada ekstrak teh (B) dan pre-RTD (C)

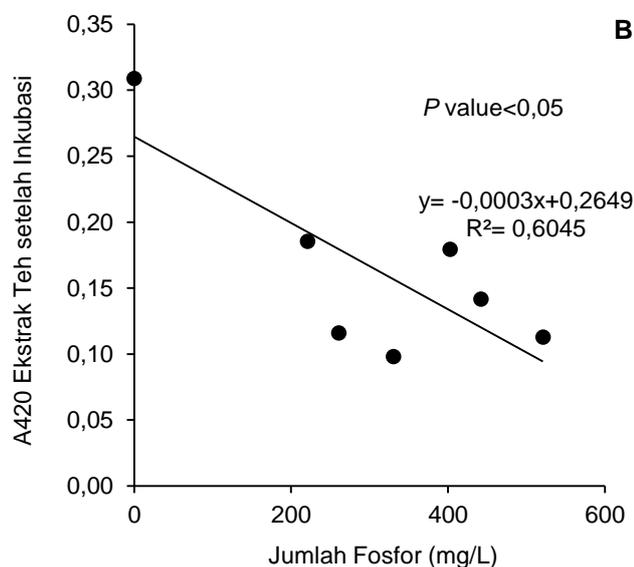
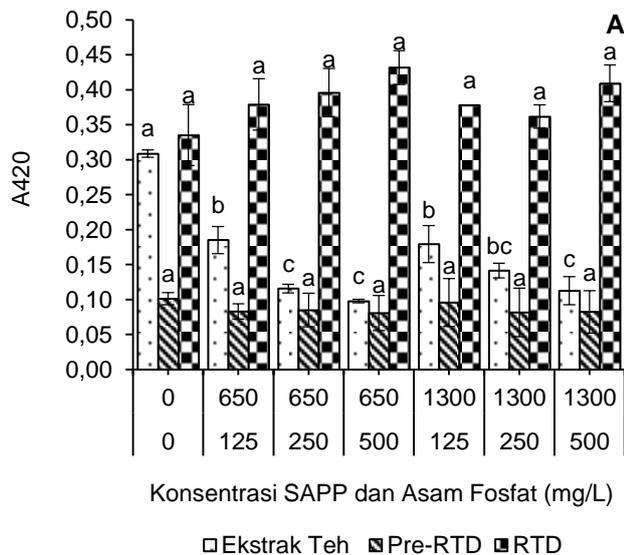
Natrium bikarbonat dapat termasuk dalam bahan tambahan pengatur keasaman (BPOM, 2019). Saat dilarutkan dalam air, natrium bikarbonat membentuk ion natrium (Na^+), ion hidroksil (OH^-), dan asam karbonat (H_2CO_3). Penambahan natrium bikarbonat dapat meningkatkan pH karena meningkatnya konsentrasi OH^- dalam larutan. Selain itu, kondisi larutan dapat menjadi alkali karena bertambahnya konsentrasi ion bikarbonat (HCO_3^-).

Pengaruh jumlah fosfor terhadap warna (A420) ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD

Hasil analisis warna (A420) ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dapat dilihat pada

Gambar 2. Pada hasil tersebut, terlihat bahwa ekstraksi dengan campuran fosfat menghasilkan absorbans pada 420 nm yang lebih rendah signifikan dibandingkan ekstraksi tanpa fosfat setelah inkubasi. Setelah inkubasi, teh yang diekstrak dengan jumlah campuran fosfat tertinggi memiliki A420 $0,113 \pm 0,020$, sedangkan teh yang diekstraksi tanpa fosfat memiliki A420 $0,309 \pm 0,005$. Nilai A420 yang semakin rendah menunjukkan intensitas pencokelatan yang semakin rendah. Uji korelasi Pearson menunjukkan intensitas pencokelatan ekstrak teh setelah inkubasi berkorelasi signifikan negatif dengan jumlah fosfor yang ditambahkan ($r = -0,768$). Selain sebagai penurun pH, fosfat dapat berperan sebagai

pengikat ion-ion logam yang terdapat dalam minuman teh. Ion-ion logam (misalnya Fe), dapat membentuk kompleks dengan katekin, kemudian mengkatalisis reaksi autooksidasi dari katekin, sehingga menurunkan aktivitas antioksidannya (Ananingsih *et al.*, 2013). Kombinasi antara ferric pirofosfat dan pH rendah dapat dilakukan untuk meminimalisasi perubahan warna akibat terbentuknya kompleks katekin dengan besi (Bijlsma *et al.*, 2020).



Gambar 2. Absorbans pada 420 nm ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dengan penambahan berbagai konsentrasi SAPP dan asam fosfat (A). Korelasi jumlah fosfor dengan absorbans pada 420 nm setelah inkubasi pada ekstrak teh (B)

Kualifikasi air *reverse osmosis* (RO) yang digunakan dalam proses ekstraksi maupun pencampuran pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Air RO merupakan air yang telah mengalami pemisahan padatan terlarut dan senyawa organik. Teknologi RO merupakan teknologi pemisahan pada air melalui membran dengan menggunakan tekanan di atas tekanan osmotik air, sehingga dapat memisahkan garam, koloid, mikroorganisme, serta senyawa organik yang memiliki berat molekul lebih besar dari 150 (Jiang *et al.*, 2018).

Penelitian Zhang *et al.* (2017) menunjukkan bahwa jenis air yang digunakan untuk mengekstraksi teh putih memengaruhi jenis senyawa yang terekstrak dan karakteristik sensori ekstrak teh. Ekstraksi dengan air murni (pH= 6,6) menghasilkan skor sensori warna yang paling tinggi dibandingkan dengan menggunakan mata air (pH= 7,3) dan air keran (pH= 7,4). Hal tersebut disebabkan air murni memiliki pH yang lebih rendah dan ion terlarut yang lebih sedikit dibandingkan mata air dan air keran, sehingga memiliki efek positif terhadap stabilitas pigmen yang larut air (flavonol, antosianin, flavonon, dan flavanol). Selain warna, ekstraksi dengan air murni juga menghasilkan skor sensori tertinggi untuk aroma dan rasa.

Tabel 2. Kualifikasi air RO

Parameter	Satuan	Hasil Analisis
Warna	-	Normal (jernih)
Aroma	-	Normal (tidak beraroma)
Rasa	-	Normal (tidak berasa)
Konduktivitas	$\mu\text{s}/\text{cm}$	2,88
Total padatan terlarut (TDS)	mg/L	1,49
Kesadahan	mg/L	<1,0
pH	-	6,9
Fe	mg/L	0,179

Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan pH yang signifikan antara kontrol dengan perlakuan fosfat pada pre-RTD, namun warna semua pre-RTD yang dihasilkan tidak berbeda signifikan hingga setelah inkubasi. Hal tersebut dapat disebabkan semua sampel sudah berada pada kondisi asam (pH<4,0), sehingga katekin stabil dan reaksi oksidasi lebih lambat. Setelah inkubasi, nilai A420 pre-RTD untuk perlakuan fosfat tertinggi adalah $0,083 \pm 0,030$, sedangkan pre-RTD tanpa fosfat memiliki A420 $0,101 \pm 0,009$. Berdasarkan Ellinger (2018), penambahan asam polifosfat sebanyak 0,1-0,2% dapat menstabilkan asam askorbat. Hal tersebut dapat terjadi disebabkan fosfat dapat berikatan dengan logam penyebab oksidasi asam askorbat. Adanya logam dapat membuat askorbat memiliki efek pro-oksidan, yaitu logam dengan redoks yang aktif direduksi oleh askorbat kemudian bereaksi

dengan oksigen, sehingga menghasilkan superoksida yang kemudian menghasilkan peroksida (H_2O_2) (Du *et al.*, 2012).

Fosfat yang ditambahkan saat ekstraksi dapat menurunkan intensitas warna coklat pada RTD sebelum dan setelah proses *hot filling* (sebelum inkubasi). Sampel RTD setelah proses *hot filling* yang mengandung campuran fosfat tertinggi memiliki nilai A420 $0,143 \pm 0,006$, sedangkan RTD kontrol memiliki nilai A420 $0,340 \pm 0,037$. Setelah inkubasi, warna (A420) semua sampel RTD tidak berbeda signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi teh dengan fosfat belum bisa mem-

perlambat pencokelatan pada teh hijau RTD yang memiliki pH mendekati netral hingga setelah inkubasi (Gambar 3).

Seluruh sampel baik kontrol maupun perlakuan fosfat mengalami peningkatan A420 setelah inkubasi. Hal tersebut menunjukkan paparan panas dapat meningkatkan intensitas pencokelatan pada sampel ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD. Hasil penelitian ini sejalan dengan Zeng *et al.* (2016) yang menyebutkan bahwa meningkatnya suhu dapat menyebabkan reaksi oksidasi dan degradasi polifenol teh, sehingga warnanya menjadi semakin gelap, semakin kuning, dan kurang hijau.



Kontrol A1S1 A2S1 A3S1 A1S2 A2S2 A3S2

1A



Kontrol A1S1 A2S1 A3S1 A1S2 A2S2 A3S2

1B



Kontrol A1S1 A2S1 A3S1 A1S2 A2S2 A3S2

2A



Kontrol A1S1 A2S1 A3S1 A1S2 A2S2 A3S2

2B



Kontrol A1S1 A2S1 A3S1 A1S2 A2S2 A3S2

3A



Kontrol A1S1 A2S1 A3S1 A1S2 A2S2 A3S2

3B

Gambar 3. Penampakan visual ekstrak teh (1) pre-RTD (2) dan RTD (3) sebelum inkubasi (A) dan setelah inkubasi (B)

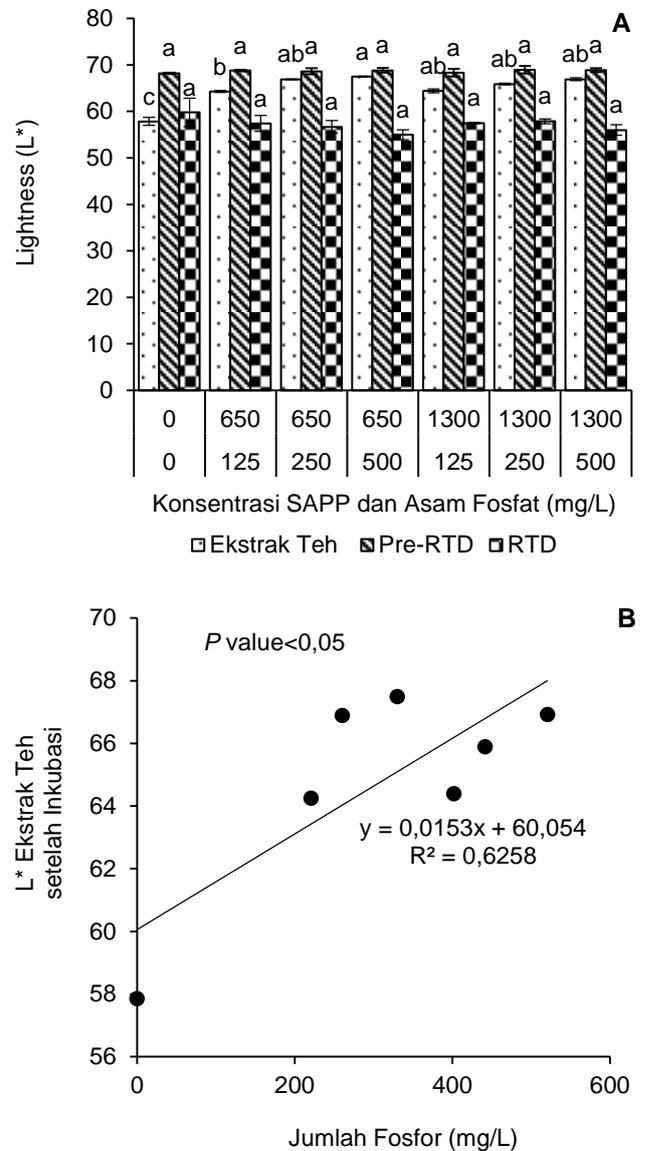
Berdasarkan Fan *et al.* (2015), perubahan warna pada katekin dari tidak berwarna menjadi kuning selama proses pemanasan disebabkan oleh reaksi oksidasi atau kondensasi. Reaksi oligomerisasi non-enzimatis pada epikatekin (EC) dan katekin (C) menghasilkan senyawa dimer yaitu dehidrodikatekin-A, yang berwarna kuning pekat dan dapat menyebabkan *off-color* (warna yang menyimpang) pada minuman teh. Proses terbentuknya senyawa tersebut dapat terjadi akibat proses pemanasan dalam suhu tinggi dan waktu yang lama, meskipun dengan tekanan oksigen yang rendah. Selain reaksi oksidasi, proses panas juga dapat meningkatkan reaksi epimerisasi katekin. EC dan EGC memiliki stabilitas terhadap panas yang lebih rendah dibandingkan dengan jenis katekin yang lainnya. Proses panas utamanya menyebabkan reaksi epimerisasi pada EC, sedangkan reaksi oksidasi pada EGC. Penelitian Vuong *et al.* (2013) menunjukkan katekin epistruktur tidak stabil pada suhu panas, dan kestabilannya terhadap suhu dipengaruhi oleh pH. Semakin tinggi pH, maka epistruktur katekin semakin banyak terdegradasi dan semakin mudah mengalami epimerisasi.

Teh mengandung asam amino, terutama 50% nya terdiri dari theanine (Chaturvedula dan Prakash, 2011). Penambahan gula (sukrosa) pada pre-RTD dan RTD dapat memicu reaksi Maillard. Saat sukrosa mengalami pemanasan, maka akan menghasilkan glukosa dan fruktosa. Glukosa merupakan gula pereduksi, dan jika bereaksi dengan gugus amino bebas pada theanine dapat mengalami reaksi Maillard, kemudian menghasilkan warna cokelat. Reaksi Maillard semakin cepat terjadi saat pH dan suhu semakin tinggi. Hal tersebut ditunjukkan pada penelitian Karseno *et al.* (2017) pada gula kelapa, yaitu semakin tinggi pH dan suhu, maka intensitas pencokelatannya semakin tinggi. Pada pH rendah, grup amino lebih banyak mengalami protonasi, sehingga lebih sedikit grup amino yang tersedia untuk reaksi Maillard. Selain memicu reaksi Maillard, keberadaan sukrosa juga dapat menurunkan stabilitas katekin. Penelitian Lončarić *et al.* (2017) menyatakan penambahan sukrosa dapat mempercepat reaksi epimerisasi katekin dan epikatekin pada suhu 80 dan 100°C.

Pengaruh jumlah fosfor terhadap warna (L^* , C^* , H^*) ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD

Gambar 4 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol dengan perlakuan fosfat pada kecerahan (L^*) ekstrak teh setelah inkubasi. Sampel kontrol memiliki kecerahan yang lebih rendah dibandingkan dengan sampel perlakuan fosfat. Nilai L^* antara sampel kontrol dan perlakuan fosfat setelah inkubasi pada sampel yang telah diformulasikan sebagai pre-RTD dan RTD tidak berbeda signifikan. Saat sampel terpapar

panas, semua sampel mengalami penurunan nilai L^* . Jumlah fosfor memiliki korelasi signifikan positif dengan kecerahan ekstrak teh setelah inkubasi ($r = 0,778$).



Gambar 4. Kecerahan ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dengan penambahan berbagai konsentrasi SAPP dan asam fosfat (A). Korelasi jumlah fosfor dengan kecerahan ekstrak teh setelah inkubasi (B)

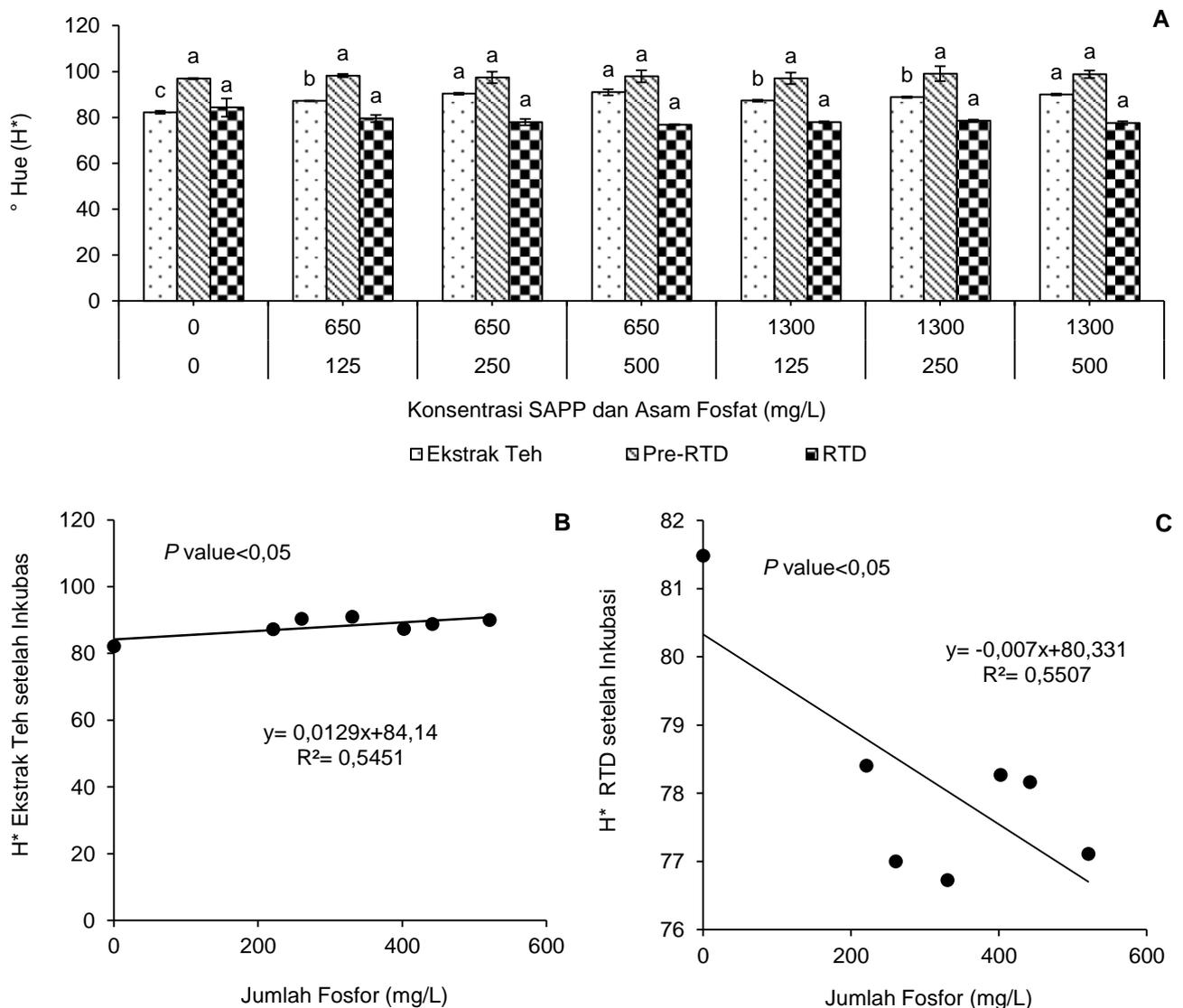
Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Xu *et al.* (2016), bahwa teh yang diekstraksi dengan air yang memiliki konduktivitas dan pH yang semakin rendah menghasilkan warna ekstrak yang semakin cerah, semakin hijau, dan kekekatannya semakin menurun (nilai L^* dan H^*

yang semakin tinggi dan C* semakin rendah). Semakin tinggi pH air yang digunakan untuk ekstraksi teh (pH>6,0), maka dapat meningkatkan oksidasi katekin dan membentuk senyawa yang berwarna. Penelitian Orona dan Medina (2019) juga menunjukkan semakin lamanya waktu penyimpanan, nilai L* dan b* mengalami penurunan, sedangkan nilai a* mengalami peningkatan.

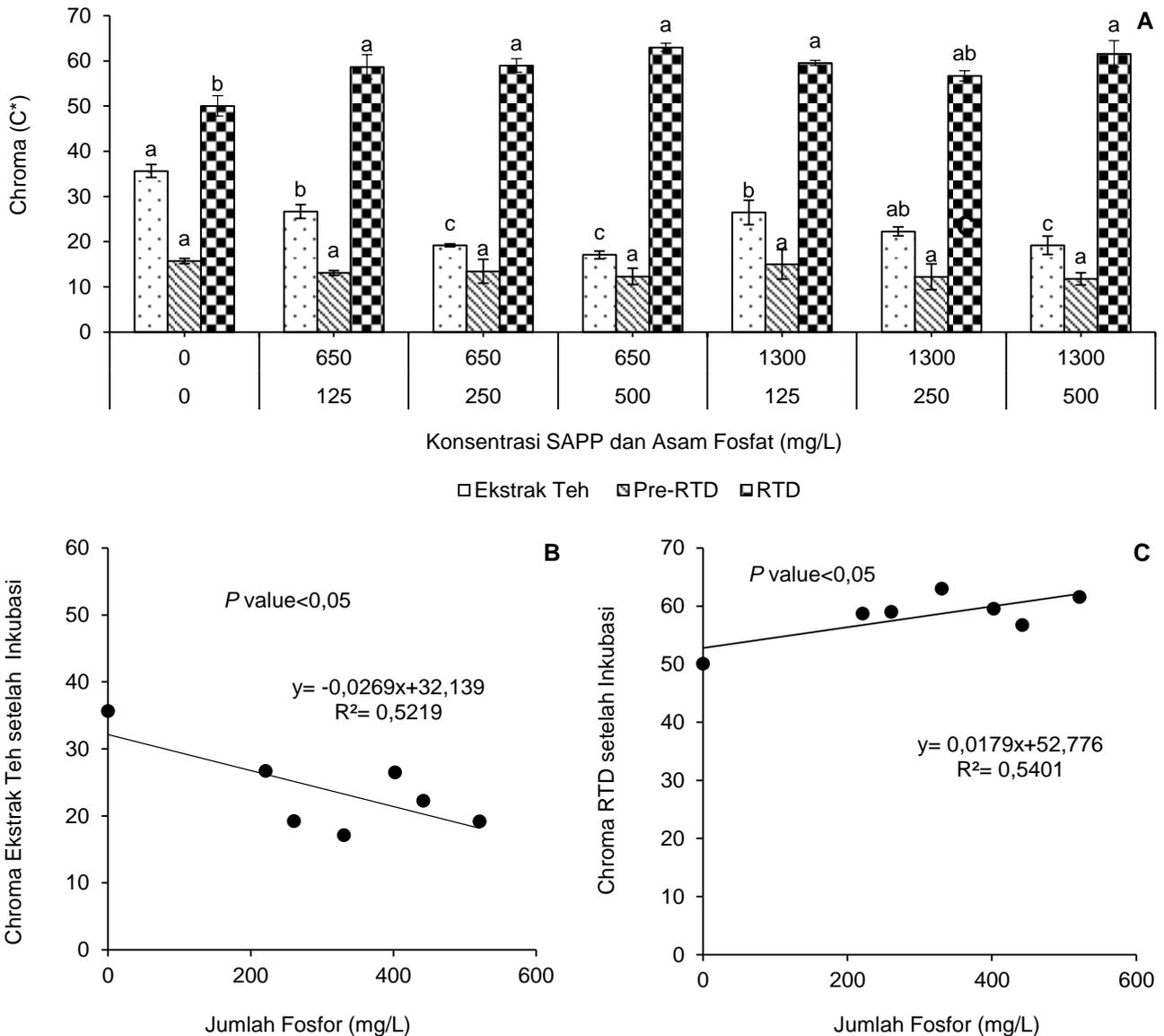
Nilai °Hue (H*) ekstrak teh, Pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah inkubasi, nilai H* ekstrak teh yang diekstraksi dengan fosfat memiliki nilai H* lebih tinggi signifikan dibandingkan tanpa fosfat. Nilai H* ekstrak teh setelah inkubasi memiliki korelasi signifikan yang positif (r= 0,728) dengan jumlah fosfor yang ditambahkan. Setelah

diformulasikan sebagai pre-RTD dan RTD, teh yang diekstraksi dengan fosfat memiliki nilai H* yang tidak berbeda signifikan dengan masing-masing kontrol setelah inkubasi. Nilai H* sampel ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD mengalami penurunan saat terpapar oleh panas. Hal tersebut menunjukkan intensitas warna hijau berkurang dan kuning meningkat.

Nilai chroma (C*) ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dapat dilihat pada Gambar 6. Teh yang diekstraksi dengan fosfat memiliki nilai chroma yang lebih rendah signifikan dibandingkan dengan ekstrak teh kontrol setelah inkubasi. Berdasarkan uji korelasi Pearson, dapat dilihat bahwa nilai chroma ekstrak teh setelah inkubasi memiliki korelasi signifikan yang negatif dengan jumlah fosfor yang ditambahkan (r= -0,710).



Gambar 5. °Hue ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dengan penambahan berbagai konsentrasi SAPP dan asam fosfat (A). Korelasi jumlah fosfor dengan °Hue setelah inkubasi pada ekstrak teh (B) dan RTD (C)



Gambar 6. Chroma ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dengan penambahan berbagai konsentrasi SAPP dan asam fosfat (A). Korelasi jumlah fosfor dengan Chroma setelah inkubasi pada ekstrak teh (B) dan RTD (C)

Nilai C^* pada semua sampel tidak berbeda signifikan setelah inkubasi saat diformulasikan sebagai pre-RTD, namun setelah diformulasikan pada RTD, nilai C^* yang diekstraksi dengan fosfat lebih tinggi signifikan dibandingkan dengan kontrol setelah inkubasi. Hal tersebut menunjukkan intensitas warna teh yang diekstrak dengan fosfat lebih pekat saat diformulasikan sebagai RTD setelah inkubasi. Semakin tinggi nilai chroma, maka warna sampel semakin pekat pada derajat $^{\circ}\text{Hue}$ yang dimiliki. Nilai chroma juga semakin tinggi saat sampel terpapar oleh panas. Berdasarkan hasil uji korelasi Pearson, terdapat korelasi negatif yang signifikan antara jumlah fosfor yang ditambahkan dengan H^* ($r = -$

$0,571$) dan korelasi positif yang signifikan dengan C^* ($r = 0,694$) pada RTD setelah inkubasi.

Penambahan Na-bikarbonat dilakukan pada formulasi RTD hingga pH semua sampel mendekati netral dan berada pada kisaran $6,1 \pm 0,2$. Jumlah Na-bikarbonat yang ditambahkan pada sampel RTD perlakuan fosfat lebih banyak dibandingkan dengan RTD kontrol, karena sampel dengan perlakuan fosfat memiliki pH lebih rendah. Hal tersebut menyebabkan jumlah ion bikarbonat (HCO_3^-) serta ion OH^- yang dihasilkan semakin banyak, sehingga kondisi RTD perlakuan fosfat lebih alkali. Berdasarkan Boyd *et al.* (2016), total alkalinitas dapat didefinisikan sebagai jumlah anion dalam air yang dapat menetralkan

kan kation hidrogen. Senyawa penyusun alkalinitas dalam air diantaranya hidroksida, karbonat, bikarbonat, amonia, fosfat, borat, silikat, dan asam organik. Keberadaan senyawa tersebut dapat mempertahankan pH dengan menetralkan asam.

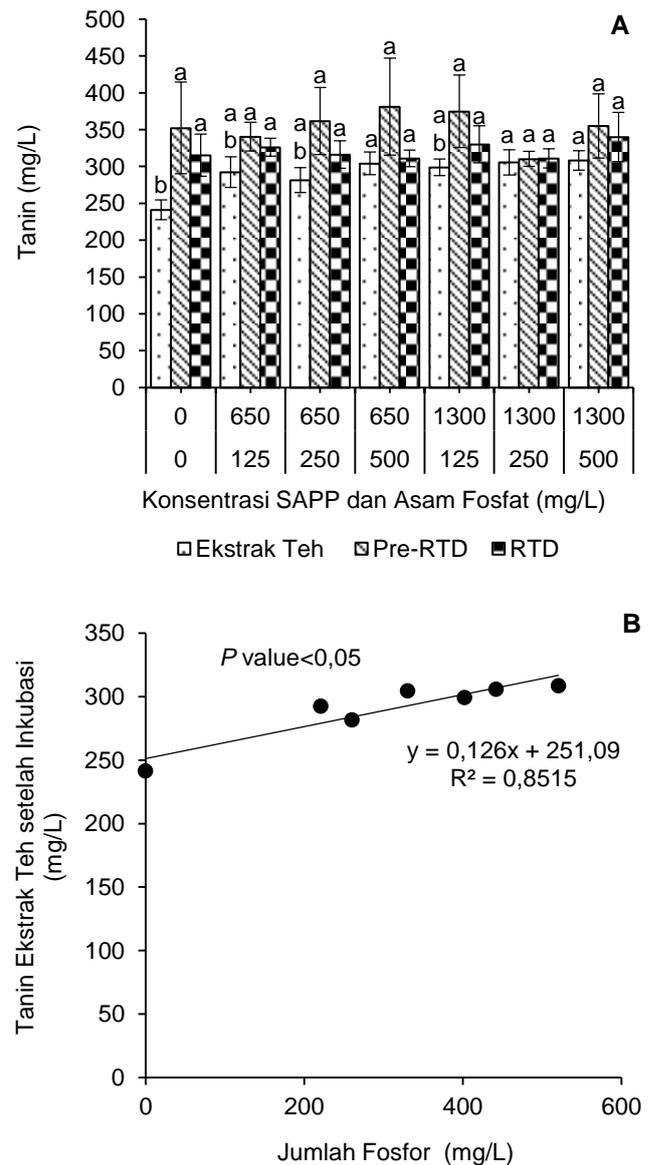
Penelitian yang dilakukan oleh Zeng *et al.* (2016) disebutkan bahwa kondisi alkali menyebabkan polifenol teh tidak stabil. Terdapat korelasi antara nilai absorbans 420 nm setelah inkubasi dengan nilai L*, H*, dan C* setelah inkubasi. Berdasarkan uji korelasi Pearson, nilai L* dan H* pada ekstrak teh setelah inkubasi memiliki korelasi signifikan yang negatif dengan nilai pada A420 ($r = -0,979$), sementara nilai C* memiliki korelasi signifikan yang positif ($r = 0,989$) dengan nilai A420. Korelasi yang sama juga ditunjukkan pada sampel pre-RTD dan RTD setelah inkubasi. Nilai A420 pre-RTD setelah inkubasi memiliki korelasi signifikan yang negatif dengan L* ($r = -0,959$) dan H* ($r = -0,942$), namun korelasi signifikan positif dengan C* ($r = 0,904$). Nilai A420 RTD setelah inkubasi berkorelasi signifikan negatif dengan L* ($r = -0,979$) dan H* ($r = -0,888$), dan berkorelasi signifikan positif dengan C* ($r = 0,871$). Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tingginya intensitas pencokelatan, diiringi dengan semakin menurunnya nilai kecerahan dan nilai Hue, serta semakin pekat warna yang dihasilkan.

Pengaruh jumlah fosfor terhadap tanin ekstrak teh, Pre-RTD, dan RTD

Tanin merupakan kelompok polifenol yang larut air dan berkontribusi terhadap rasa sepat dan dapat mengikat protein. Tanin dikelompokkan menjadi *hydrolysable* dan *condensed tannin*. *Condensed tannin* merupakan oligomer atau polimer yang terdiri dari flavan-3-ols (monomer katekin) yang dihubungkan dengan ikatan antar karbon (Corral *et al.*, 2020). Kandungan total katekin berkisar antara 13,5-31% dalam daun teh segar. Katekin dan isomernya termasuk dalam sub kelas flavonoid. Struktur katekin terdiri dari dua gugus fenol (cincin A dan B) dan satu gugus hidroksipiran (cincin C), karena memiliki gugus fenol, katekin dapat berfungsi sebagai antioksidan (Balittri, 2013). Berdasarkan Tsao dan Li (2012), mekanisme antioksidan senyawa fenolik yaitu dengan transfer atom hidrogen atau elektron bebas melalui proton.

Gambar 7 menunjukkan jumlah tanin ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi. Teh yang diekstraksi dengan kombinasi SAPP 1300 mg/L dan asam fosfat 500 mg/L dapat meningkatkan konsentrasi tanin yang terekstrak hingga 29,8% dibandingkan ekstraksi tanpa fosfat. Nilai tersebut mendekati dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Zimmermann dan Gleichenhagen (2011), yaitu ekstraksi teh dengan menggunakan bufer fosfat pH 3,0 dan 4,8 dapat meningkatkan konsentrasi flavanol yang terekstrak hingga 20%. Berdasarkan pene-

litian Lin *et al.* (2012), daun teh yang dipupuk dengan konsentrasi fosfor yang lebih tinggi menghasilkan total polifenol yang lebih tinggi saat diekstraksi. Total polifenol yang meningkat disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi flavonoid, bukan oleh konsentrasi katekin yang meningkat. Pada penelitian tersebut total fosfor tidak berpengaruh signifikan terhadap konsentrasi EGCG, EGC, C, GC, GCG, CG, dan total katekin. Penelitian Huang *et al.* (2013) menunjukkan bahwa semakin meningkatnya ekstraksi polifenol pada teh hijau dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.



Gambar 7. Tanin ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD setelah inkubasi dengan penambahan berbagai konsentrasi SAPP dan asam fosfat (A). Korelasi jumlah fosfor dengan tanin ekstrak teh setelah inkubasi (B)

Penelitian ini juga ditunjukkan bahwa ekstraksi dengan fosfat dapat meningkatkan konsentrasi tanin setelah inkubasi, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstraksi dengan fosfat dapat menstabilkan jumlah tanin. Hasil uji korelasi Pearson menunjukkan terdapat korelasi signifikan yang positif ($r = 0,822$) antara jumlah fosfor dengan kandungan tanin ekstrak teh setelah inkubasi.

Berdasarkan Xu *et al.* (2016), kapasitas antioksidan ekstrak teh dipengaruhi oleh pH dan konduktivitas air yang digunakan untuk ekstraksi. Nilai pH dan konduktivitas air memiliki korelasi signifikan yang negatif dengan kapasitas antioksidan. Kapasitas antioksidan pada ekstrak teh utamanya dipengaruhi oleh katekin. Semakin rendah pH dan konduktivitas air pengeksktrak, maka jumlah ekstrak dan stabilitas katekin semakin meningkat. Pada penelitian ini, jumlah tanin tidak berbeda signifikan antar perlakuan setelah inkubasi pada pre-RTD dan RTD. Pada pre-RTD, semua sampel setelah inkubasi memiliki kisaran nilai tanin antara 310-362 mg/L. Nilai tanin semua sampel RTD setelah inkubasi berkisar 310-340 mg/L.

Tanin pada semua perlakuan mengalami penurunan setelah proses inkubasi. Rata-rata penurunan tanin pada ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD perlakuan fosfat masing-masing yaitu 8,32; 0,30; dan 7,96%. Penurunan tanin pada ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD kontrol masing-masing yaitu 14,25; 2,06; dan 8,89%. Penurunan tanin setelah inkubasi pada suhu panas disebabkan tanin lebih banyak mengalami oksidasi, sehingga komponen tanin terdegradasi. Reaksi oksidasi akan dipercepat dengan pH larutan yang semakin tinggi. Telah disebutkan dalam pembahasan sebelumnya bahwa proses inkubasi juga dapat meningkatkan nilai A420 dan C^* , menurunkan L^* dan H^* pada ekstrak teh, pre-RTD, dan RTD. Hasil ini menunjukkan bahwa proses inkubasi dapat meningkatkan oksidasi tanin, sehingga berefek terhadap warna yang dihasilkan semakin cokelat, kecerahan menurun, serta kepekatan warna meningkat. Berdasarkan Zeng *et al.* (2016), warna kuning berkorelasi dengan oksidasi polifenol teh. Pada penelitian tersebut, semakin tinggi pH dan paparan suhu, maka warna teh semakin kuning, ditunjukkan dengan nilai absorbans pada 425 nm yang semakin tinggi. Selain itu, semakin tinggi pH juga menurunkan nilai L^* dan meningkatkan nilai a^* dan b^* . Dalam pH netral, EGCG mudah mengalami autooksidasi. Produk utama dari oksidasi tersebut memiliki struktur dimer dan memiliki berat molekul yang lebih tinggi.

Disebutkan dalam Gadkari dan Balaraman (2015), katekin sensitif terhadap oksidasi, cahaya, suhu tinggi, dan kondisi alkali. Hasil penelitian Hunaefi *et al.* (2018) menunjukkan bahwa pH dan total fenol mengalami penurunan dengan semakin meningkatnya suhu penyimpanan. Hal yang sama

ditunjukkan oleh penelitian Orona dan Medina (2019), yang menyebutkan bahwa ekstrak teh yang telah diproses sterilisasi dan disimpan pada suhu ruang selama 9 hari mengalami penurunan total fenol sebanyak 44,67%, penurunan total katekin 33,40%, dan penurunan total non katekin 56,93%.

Penelitian Chen *et al.* (2001) menunjukkan stabilitas katekin teh hijau selama proses pemanasan dengan autoklaf pada suhu 120°C selama 20 menit dipengaruhi oleh pH. Pada pH 3,0 dan 4,0, katekin teh hijau relatif stabil, tetapi mulai terdegradasi pada pH 5,0 dan 6,0. Lebih dari 80% katekin teh hijau masih tersisa setelah proses pemanasan tersebut pada pH 3,0 dan 4,0, tetapi saat pH 6,0, katekin teh hijau hanya tersisa 20%. Semakin meningkatnya waktu penyimpanan, jumlah katekin yang tersisa semakin sedikit pada pH yang semakin tinggi. Proses sterilisasi dengan panas pada minuman teh dalam kaleng atau botol dapat mengkonversi EGCG menjadi GCG. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa penggunaan asam askorbat dapat melindungi katekin setelah 1 bulan proses sterilisasi, namun setelah itu asam askorbat berperan sebagai prooksidan, yang dapat memicu degradasi katekin. Asam askorbat (AA) sering digunakan sebagai bahan tambahan pada minuman teh hijau dengan tujuan melindungi stabilitas katekin, namun asam askorbat sangat mudah mengalami oksidasi pada medium cair menjadi asam dehidroaskorbat (DHAA). DHAA dapat melindungi stabilitas EGCG dengan menghambat reaksi hidrolisis, namun dapat juga bereaksi membentuk DHAA-EGCG sehingga dapat memicu degradasi katekin (Chen *et al.*, 2020). Kecepatan oksidasi asam askorbat sangat dipengaruhi oleh pH medium, suhu, oksigen, dan dikatalis oleh keberadaan logam. Kestabilan asam askorbat paling tinggi pada pH 3,0, sedangkan kestabilannya akan semakin menurun saat pH medium semakin tinggi (Dolińska *et al.*, 2012)

Nilai konstanta disosiasi asam (K_a) dapat digunakan untuk mengukur kekuatan asam dalam suatu larutan. Semakin besar nilai K_a , atau semakin rendah nilai pK_a , maka semakin kuat asam tersebut, karena semakin banyak ion H^+ yang dilepaskan. Ion H^+ dapat menangkap radikal bebas, sehingga jika semakin banyak ion H^+ yang dilepaskan maka aktivitas antioksidan dapat meningkat. Tingkat keasaman larutan pengeksktrak dapat memengaruhi jumlah ion H^+ yang dilepaskan (Achyadi *et al.*, 2018). Yeni *et al.* (2017) menyebutkan semakin banyak ion H^+ bebas, maka dapat meregenerasi senyawa antioksidan dengan cara berikatan dengan radikal fenoksil membentuk senyawa antioksidan kembali. Aktivitas antioksidatif pada antioksidan dapat mengalami perubahan tergantung pada nilai pH medium dan pK_a antioksidan. Berdasarkan Muzolf-Panek *et al.* (2012), adanya gugus galat

pada epikatekin galat (ECG), galokatekin galat (GCG), dan epigalokatekin galat (EGCG) dapat menurunkan nilai pKa. Hal tersebut disebabkan jumlah gugus hidroksil meningkat dengan adanya gugus galat. Nilai pKa ECG, GCG, dan EGCG masing-masing yaitu 7,72; 7,61; dan 7,64. Katekin mengalami protonasi saat pH medium lebih rendah dari pKa katekin, sebaliknya saat berada pada pH yang lebih tinggi dari pKa, katekin mengalami deprotonasi. Pada penelitian ini, ekstraksi teh dengan campuran fosfat dapat menurunkan pH ekstraksi sehingga tanin berada pada dalam keadaan terprotonasi, kemudian menyebabkan donasi proton menjadi sulit. Berdasarkan Lončarić *et al.* (2017), pada pH netral atau basa potensi katekin untuk mendonorkan proton meningkat, sehingga lebih mudah untuk mengalami degradasi.

KESIMPULAN

Penambahan SAPP dan asam fosfat dengan jumlah 221-521 mg/L pada air pengekstrak sebelum ekstraksi teh hijau dapat menurunkan pH ekstrak teh dari 5,83±0,18 menjadi 2,8-3,8, meningkatkan kecerahan warna, serta meningkatkan konsentrasi tanin yang terekstrak. Gula dan asam askorbat yang ditambahkan pada ekstrak teh dengan atau tanpa penambahan fosfat dapat membuat pH semua sampel <4,0 dan mempertahankan kecerahan pre-RTD hingga setelah inkubasi. Penambahan campuran fosfat pada teh yang mengandung natrium bikarbonat (pH mendekati netral), belum memperlihatkan pengaruh terhadap kestabilan warna. Hal tersebut menunjukkan reaksi pencokelatan pada minuman teh dapat dihambat dengan penambahan fosfat pada kondisi pH<4,0. Selain itu, penambahan SAPP 1300 mg/L dan asam fosfat 500 mg/L pada air pengekstrak dapat meningkatkan konsentrasi tanin hingga 29,8% dibandingkan ekstraksi tanpa fosfat. Hal tersebut dapat memberikan manfaat bagi industri sebagai potensi penghematan biaya dalam proses ekstraksi teh, dengan mempertimbangkan aspek sensori yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achyadi N, Sutrisno A, Fauziah A. 2018. Pengaruh bahan pengekstrak terhadap karakteristik ekstrak senyawa fungsional dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Pas Food Technol J* 4: 23-30. DOI: 10.23969/pftj.v6i1.1505.
- Ananingsih VK, Sharma A, Zhou W. 2013. Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability and detection. *Food Res Int* 50: 469-479. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.03.004.
- Baek N, Kim Y, Duncan SE, Leitch K, O'Keefe S. 2021. (-)-Epigallocatechin gallate stability in ready-to-drink (rtd) green tea infusions in TiO₂ and oleic-acid-modified TiO₂ polylactic acid film packaging stored under fluorescent light during refrigerated storage at 4°C. *Foods* 10: 1-12. DOI: 10.3390/foods10040723.
- Balitri J. 2013. Kandungan senyawa kimia pada daun teh (*Camellia sinensis*). *War Penelit dan Pengemb Tanam Ind* 19: 12-16.
- Bark KM, Yeom JE, Yang JI, Yang IJ, Park CH, Park HR. 2011. Spectroscopic studies on the oxidation of catechin in aqueous solution. *Bull Korean Chem Soc* 32: 3443-3447. DOI: 10.5012/bkcs.2011.32.9.3443.
- Bijlsma J, de Bruijn WJC, Hageman JA, Goos P, Velikov KP, Vincken JP. 2020. Revealing the main factors and two-way interactions contributing to food discolouration caused by iron-catechol complexation. *Sci Rep* 10: 1-11. DOI: 10.1038/s41598-020-65171-1.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2019. Perka BPOM No. 11 Tahun 2019 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan. BPOM RI, Jakarta.
- Briawan D, Hardinsyah, Marhamah, Zulaikhah, Aries M. 2011. Konsumsi minuman dan preferensinya pada remaja di Jakarta dan Bandung. *Gizi Indon* 34: 43-51. DOI: 10.36457/gizindo.v34i1.100.
- Boyd CE, Tucker CS, Somridhivej B. 2016. Alkalinity and hardness: Critical but elusive concepts in aquaculture. *J World Aquac Soc* 47: 6-41. DOI: 10.1111/jwas.12241.
- Chan EWC, Soh EY, Tie PP, Law YP. 2011. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res* 3: 266-272. DOI: 10.4103/0974-8490.89748.
- Chen Z, Zhu Q, Tsang D, Huang Y. 2001. Degradation of green tea catechins in tea drinks. *J Agric Food Chem* 49: 477-482. DOI: 10.1021/jf000877h.
- Chen L, Wang W, Zhang J, Wang W, Ni D, Jiang H. 2020. Dehydroascorbic acid affects the stability of catechins by forming conjugations. *Molecules* 25: 1-12. DOI: 10.3390/molecules25184076.

- Chaturvedula VSP, Prakash I. 2011. The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *J Med Plants Res* 5: 2110-2124.
- Choung M, Lee M. 2011. Optimal extraction conditions for simultaneous determination of catechins and caffeine in green tea leaves. *Food Sci Biotechnol* 20: 327-333. DOI: 10.1007/s10068-011-0046-1.
- Corral FM, Oliveira PG, Pereira AG, Lopes CL, Lopez CJ, Prieto MA, Gandara JS. 2020. Technological application of tannin-based extracts. *Molecules* 25: 1-27. DOI: 10.3390/molecules25030614.
- Dai Q, He Y, Ho C, Wang J, Wang S, Yang Y, Gao L, Xia T. 2017. Effect of interaction of epigallocatechin gallate and flavonols on color alteration of simulative green tea infusion after thermal treatment. *J Food Sci Technol* 54: 2919-2928. DOI: 10.1007/s13197-017-2730-5.
- Dolińska B, Ostróżka-Cieślak A, Caban A, Rimantas K, Leszczyńska L, Ryszka F. 2012. Influence of trace elements on stabilization of aqueous solutions of ascorbic acid. *Biol Trace Elem Res* 150: 509-512. DOI: 10.1007/s12011-012-9524-4.
- Du J, Cullen JJ, Buettner GR. 2012. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim Biophys Acta-Rev Cancer* 1826: 443-457. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003.
- Ellinger R. 2018. Phosphates as Food Ingredients. 15. 85-87. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- [FAO] Food Agricultural Organization. 2019. GSFA Online : Sodium Polyphosphate (452i): <http://www.fao.org/gsfonline/additives/details.html?id=37> [13 September 2019].
- Fan FY, Shi M, Nie Y, Zhao Y, Ye JH, Liang YR. 2015. Differential behaviors of tea catechins under thermal processing: formation of non-enzymatic oligomers. *Food Chem* 106: 347-354. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.056.
- Forester S, Lambert J. 2011. The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention. *Mol Nutr Food Res* 55: 844-854. DOI: 10.1002/mnfr.201000641.
- Gadkari PV, Balaraman M. 2015. Catechins: sources, extraction and encapsulation - a review. *Food Bioprod Process* 93: 122-138. DOI: 10.1016/j.fbp.2013.12.004.
- Hariyadi P. 2013. Hot-fill processing of beverages. *Foodreview Int* 1: 46-49.
- Hasan A. 2017. Pengaruh asam askorbat dan sodium acid pyrophosphate (sapp) dalam mencegah kerusakan antioksidan ubijalar ungu varietas antin 3. *J Agritech Sci* 1: 38-50.
- Huang W, Lin Y, Ho R, Liu H, Lin Y. 2013. Effects of water solutions on extracting green tea leaves. *Sci World J* 2013: 1-6. DOI: 10.1155/2013/368350.
- Hunaefi D, Yuliana ND, Rynaldo M, Dede R. 2018. Emotional sensory mapping of PET-packaging tea product. *Int Conf Food Agric* (2018): 288-305.
- Iwasa K. 1975. Methods of chemical analysis. *Japan Agric Res Q* 9: 161-164.
- Jiang L, Tu Y, Li X, Li H. 2018. Application of reverse osmosis in purifying drinking water. *E3S Web of Conferences* 38: 1-6. DOI: 10.1051/e3sconf/20183801037.
- Karseno, Erminawati, Yanto T, Setyowati R, Har-yanti P. 2017. Effect of pH and temperature on browning intensity of coconut sugar and its antioxidant activity. *Food Res* 2: 1-7. DOI: 10.26656/fr.2017.2(1).175.
- [Kemendag RI] Kementerian perdagangan Republik Indonesia. 2015. What's inside Indonesian tea. *Export News Indonesia* 2: 1-12.
- Kortei NK, Odamtten GT, Obodai M, Appiah V, Akonor PT. 2015. Determination of color parameters of gamma irradiated fresh and dried mushrooms during storage. *Croat J Food Technol Biotechnol Nutr* 10: 66-71.
- Kim Y, Welt B, Talcott S. 2011. The impact of packaging materials on the antioxidant phytochemical stability of aqueous infusions of green tea (*Camellia sinensis*) and Yaupon Holly (*Ilex vomitoria*) during cold storage. *J Agric Food Chem* 59: 4676-4683. DOI: 10.1021/jf104799y.
- Li N, Taylor L, Ferruzzi M, Mauer L. 2012. Kinetic study of catechin stability: Effects of pH, concentration, and temperature. *J Agric Food Chem* 60: 12531-12539. DOI: 10.1021/jf30416s.
- Lin ZH, Qi YP, Chen RB, Zhang FZ, Chen LS. 2012. Effects of phosphorus supply on the quality of green tea. *Food Chem* 130: 908-914. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.08.008.
- Liu P, Lu X, Li N, Zheng Z, Qiao X. 2019. Characterization, variables, and antioxidant activity of the maillard reaction in a fructose-histidine model system. *Molecules* 24: 1-15. DOI: 10.3390/molecules24010056.
- Lončarić A, Pablo Lamas J, Guerra E, Kopjar M, Lores M. 2017. Thermal stability of catechin and epicatechin upon disaccharides addition. *Int J Food Sci Technol* 53: 1195-1202. DOI: 10.1111/ijfs.13696.
- McHugh ML. 2011. Multiple comparison analysis testing in anova. *Biochemia Medica* 21: 203-209. DOI: 10.11613/bm.2011.029.

- Nagai H, Sato K. 2001. Asahi Soft Drinks Co. Ltd. 2001 Maret 13. Method for preventing powdered tea-containing food from browning and powder green tea beverage to prevent browning held in transparent container. Paten JP2001061412A.
- Orona V, Medina G. 2019. Changes in phenolics and antioxidant capacity during short storage of ready-to-drink green tea (*Camellia sinensis*) beverage at commercial conditions. *Post Harvest Technol* 78: 141-145. DOI: 10.1590/1678-4499.2018027.
- Muzolf-Panek M, Gliszczynska-Świgło A, Szymusiak H, Tyrakowska B. 2012. The influence of stereochemistry on the antioxidant properties of catechin epimers. *Eur Food Res Technol* 235: 1001-1009. DOI: 10.1007/s00217-012-1826-4.
- Pastoriza S, Mesías M, Cabrera C, Henares JAR. 2017. Healthy properties of green and white teas: An update. *Food Funct* 8: 2650-2662. DOI: 10.1039/c7fo00611j.
- Spiro M, Price WE. 1987. Kinetics and equilibria of tea infusion part 6: The effects of salts and of pH on the concentrations and partition constants of theaflavins and caffeine in Kapchorua Pekoe fannings. *Food Chem* 24: 51-61. DOI: 10.1016/0308-8146(87)90083-5.
- Tsao R, Li H. 2012. Antioxidant properties *in vitro* and *in vivo*: realistic assessments of efficacy of plant extracts. *CAB Rev* 7: 1-9. DOI: 10.1079/PAVSNNR20127009.
- Vuong Q, Golding J, Stathopoulos C, Roach P. 2013. Effects of aqueous brewing solution pH on the extraction of the major green tea constituents. *Food Res Int* 53: 713-719. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.09.017.
- Wang L, Kim D, Park J, Lee C. 2003. Various anti-browning agents and green tea extract during processing and storage. *J Food Process Preserv* 27: 213-225. DOI: 10.1111/j.1745-4549.2003.tb00513.x.
- Xu H, Zhang L, Chenxin E. 2010. The Coca Cola Company. 2010 Mei 6. Inhibition of the formation of tea opacification or precipitation in tea drinks during storage. Paten USA 20100035098 A1 .
- Xu Y, Zou C, Gao Y, Chen J, Wang F, Chen G, Yin J. 2016. Effect of the type of brewing water on the chemical composition, sensory quality and antioxidant capacity of Chinese teas. *Food Chem* 236: 142-151. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.11.110.
- Yeni G, Syamsu K, Mardiyati E, Muchtar H. 2017. Determination of process technology on making of pure gambier and standardized catechin from raw gambier. *J Litbang Ind* 7: 1-10.
- Zeng L, Maa M, Li C, Luo L. 2016. Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *Int J Food Prop* 20: 1-18. DOI: 10.1080/10942912.2014.983605.
- Zhang H, Jiang Y, Lv Y, Pan J, Duan Y, Huang Y, Zhu Y, Zhang S, Geng K. 2017. Effect of water quality on the main components in Fuding white tea infusions. *J Food Sci Technol* 54: 1206-1211. DOI: 10.1007/s13197-017-2571-2.
- Zimmermann B, Gleichenhagen M. 2011. The effect of ascorbic acid, citric acid and low pH on the extraction of green tea: How to get most out of it. *Food Chem* 124: 1543-1548. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.009.