

## EKSTRAKSI SENYAWA BIOAKTIF THEAFLAVIN TEH OOLONG (*CAMELLIA SINESIS*) DENGAN AIR SEBAGAI *GREEN SOLVENT*

Rizka Amalia<sup>\*1</sup>, Mohammad Endy Yulianto<sup>1</sup>, Susiana Purwantisari<sup>2</sup>, Yusuf Arya Yudanto<sup>1</sup>, Ilyas Teguh Pangestu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Rekayasa Kimia Industri, Sekolah Vokasi, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Kampus Undip Tembalang, Semarang, Indonesia 50275

<sup>2</sup>Program Studi S-1 Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Kampus Undip Tembalang, Semarang, Indonesia 50275

<sup>3</sup>Program Studi D-III Teknologi Kimia, Sekolah Vokasi, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof Soedarto, SH, Kampus Undip Tembalang, Semarang, Indonesia 50275

### ABSTRACT

*Theaflavin, a polyphenolic compounds found in oolong tea and black tea, thought to have medicinal potency. Theaflavins and their derivatives such as theaflavin gallate have shown a broad spectrum of antiviral activity against several viruses, including influenza A, B and hepatitis C viruses. Previous research show that theaflavins could inhibit RdRp activity through blocking the active site in the catalytic pocket of RdRp in SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV. This research aims to extract theaflavins in oolong tea with water solvent at a temperature of 100°C, pressure > 1 atm and varied extraction times (10-60 minutes). The effect of oolong tea extraction time towards the theaflavin content was observed. The results showed that with the longer extraction time, the theaflavin levels were reduced due to the degradation of thermal theaflavins into thearubigins. The model exponential equation obtained is  $y=14,91488 e^{-0,2631x} + 0,11865$ , with the  $R^2=0.99161$ . The best operating conditions was obtained at 10 minutes of extraction time, resulted in 1.19% of the total theaflavin content of oolong tea.*

**Keywords:** oolong tea; theaflavin; extraction; green solvent; SARS-CoV-2.

### PENDAHULUAN

Penyakit pernapasan akut, yang disebabkan oleh virus corona SARS-CoV-2 telah menyebar ke seluruh dunia. Gejala klinis pasien COVID-19 termasuk demam, batuk, kelelahan dan gejala infeksi saluran cerna. Lansia dan orang dengan penyakit bawaan rentan terhadap infeksi, yang mungkin terkait dengan sindrom gangguan pernapasan akut (ARDS) dan badai sitokin. Virus corona menggunakan reseptor yang sama, seperti pada SARS-CoV yaitu *angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)* dan menyebar melalui saluran pernapasan [1]. Replikasi dan patogenesis virus corona ACE2, ditemukan di saluran pernapasan, dikenal sebagai reseptor sel untuk SARS-CoV [2] dan mengatur transmisi spesies dan transmisi manusia ke manusia [3]. Zhou [1] mengkonfirmasi bahwa SARS-CoV-2 menggunakan reseptor entri seluler yang sama ACE2, seperti SARS-CoV. S-glikoprotein pada permukaan virus corona dapat menempel pada reseptor, ACE2 pada permukaan sel manusia [4].

Saat ini, beberapa kandidat antivirus dan obat yang berpotensi sedang diteliti. Salah satu skrining dari struktur kimia yang paling berpotensi sebagai inhibitor RdRp yang aktif pada SARS-CoV-2 adalah senyawa theaflavin (ZINC3978446). Theaflavin dapat merapat pada kantong katalitik dekat situs RdRp aktif pada SARS-CoV-2, SARS-CoV dan mer-CoV dan memblokir sisi aktifnya [5]. Theaflavin (TF) merupakan komponen hasil oksidasi katekin yang berpengaruh memberikan warna, rasa, dan aroma pada teh hitam maupun teh oolong [6].

Theaflavin yang merupakan senyawa polifenol dalam teh yang dianggap memiliki potensi obat herbal. Theaflavin dan derivatnya seperti theaflavin gallate telah menunjukkan spektrum luas aktivitas antivirus terhadap beberapa virus, termasuk influenza A dan B dan virus hepatitis C. Ekstrak dari teh hitam, dengan kandungan senyawa bioaktif berupa theaflavin dan theaflavin gallate, memiliki aktivitas penghambatan ampuh melawan SARS, dengan menghambat aktivitas SARS-CoV 3CL<sup>pro</sup>. Hasil kajian menunjukkan bahwa theaflavin dapat merapat di kantong katalitik dekat situs RdRp yang aktif pada SARS-CoV-2, SARS-CoV dan mer-CoV [5].

Ekstraksi menggunakan air pada suhu sekitar 25°C pada teh hitam menghasilkan perolehan theaflavin sebesar 5-8%. Sedangkan ekstraksi pada suhu 80-85°C dengan pelarut air dihasilkan theaflavin dengan kadar 30-40%. Ekstraksi pada suhu tinggi cenderung akan menurunkan kadar theaflavin terkestrak jika dilakukan dalam waktu yang lama. Penggunaan pelarut organik seperti alkohol dapat mengekstrak hampir 100% kadar theaflavin dalam teh hitam, tetapi menimbulkan kesulitan pada proses pemisahan hilir. Hasil ekstraksi dengan perolehan theaflavin yang sangat tinggi dapat dilakukan dalam pelarut seperti alkohol dan etil asetat, akan tetapi pemisahan theaflavin dari alkohol menggunakan pelarut seperti etilasetat memberikan efisiensi ekstraksi keseluruhan yang rendah [7]. Selain itu, proses tersebut berpotensi meninggalkan residu pelarut yang bersifat toksik, pelarut tidak dapat

direcycle, dan proses handling yang tidak mudah [8]–[10].

Alternatif proses ekstraksi yang dianggap tepat adalah proses ekstraksi dengan kriteria: (i) menggunakan pelarut yang tidak bersifat toksik; (ii) menggunakan pelarut yang murah, mudah diperoleh, ketersediaan melimpah, memiliki kemurnian tinggi, dapat direcycle dan mudah di handling; (iii) memiliki polaritas yang mendekati polaritas alkohol; serta (iv) memiliki viskositas dan tegangan permukaan yang rendah. Proses ekstraksi yang memenuhi kriteria tersebut diatas adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut air (*green solvent*)

Tujuan riset adalah ekstraksi theaflavin pada teh oolong dengan pelarut air pada suhu 100°C dan tekanan >1 atm. Namun demikian, problem utamanya dimungkinkan terjadi degradasi termal theaflavin menjadi thearubigin. Oleh karenanya perlu studi pengaruh waktu ekstraksi teh pada suhu 100°C terhadap kandungan theaflavin. Pada penelitian ini, suhu proses ekstraksi diatur pada suhu terendah air subkritis (100°C) untuk menghindari degradasi theaflavin menjadi thearubigin. Bahan baku teh dapat berasal dari daun *Camelia sinensis var. Sinensis* dan atau *Camellia sinensis var. assamica* yang mengandung theaflavin dari teh hitam maupun the oolong. Ekstraksi theaflavin pada the hitam sudah banyak dilakukan. Pada penelitian ini, bahan baku yang digunakan adalah teh oolong.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan utama untuk penelitian ini adalah teh oolong yang dibeli dari produsen Teh 63 Jawa Oolong Tea dan distilled water sebagai solven ekstraksi serta nitrogen untuk mendukung proses ekstraksi. Bahan kimia lainnya yang digunakan untuk analisis antara lain: etil asetat p.a, methanol p.a (MERCK) yang dibeli dari PT. Kurnia Makmur, Semarang.

### Alat

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah extractor hydrothermal. Sedangkan untuk keperluan analisis, digunakan Spektrofotometer Visible Genesys 20 dengan panjang gelombang 380 nm.

### Ekstraksi Theaflavin

Proses ekstraksi theaflavin dilakukan dalam suatu ekstraktor, dimana rasio massa antara teh oolong dengan air adalah 1;50. Sejumlah air dengan volume tertentu ditambahkan ke dalam sel ekstraksi. Setelah sel ditutup secara aman dengan penutup dari baja tahan karat, gas nitrogen kemudian dilewatkan

untuk membersihkan udara. Ekstraksi dilakukan pada suhu 100°C, dan waktu ekstraksi 10-60 menit pada tekanan tetap 1,8 kg/cm<sup>2</sup>. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran ekstraksi dipindahkan ke sel pendingin [11]. Sampel diambil dan dianalisis kandungan theaflavin.

### Analisis Theaflavin

Analisis Theaflavin dilakukan mengacu dari metode [12] dengan menggunakan spektrofotometer Visible. Tahap awal dimulai dengan mencampurkan dan mengaduk 50 ml sampel teh yang dengan 50 ml etil asetat. Dari hasil ekstraksi cair-cair tersebut, diambil 4 ml lapisan etil asetat dan ditambahkan dengan methanol dalam labu takar hingga volume tepat 25 ml. Persiapan blanko dilakukan dengan metode yang sama dengan sampel, dengan tanpa mengekstrak teh terlebih dahulu. Ukur absorbansi dari larutan sampel menggunakan spektrofotometer visible dengan panjang gelombang 380 nm. Kadar Theaflavin dapat dihitung dengan rumus berikut

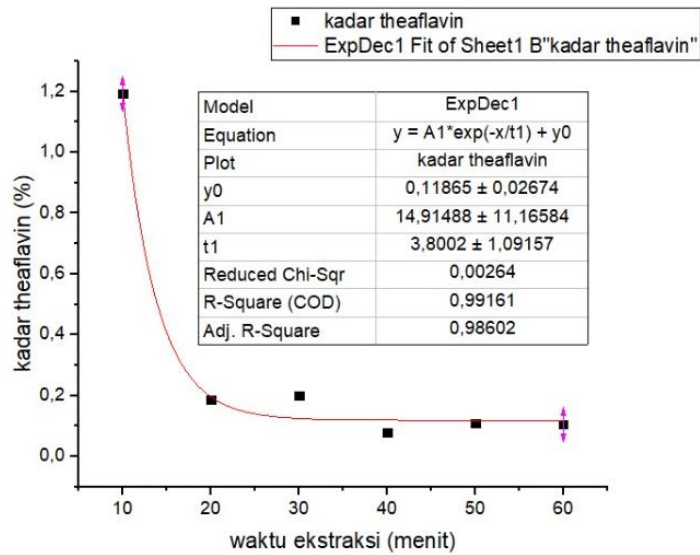
$$\% \text{ Theaflavin} = 2,25 \times E1 \quad (1)$$

Dimana E1 adalah absorbansi larutan A pada panjang gelombang 380 nm setelah distandarisasi dengan blanko.

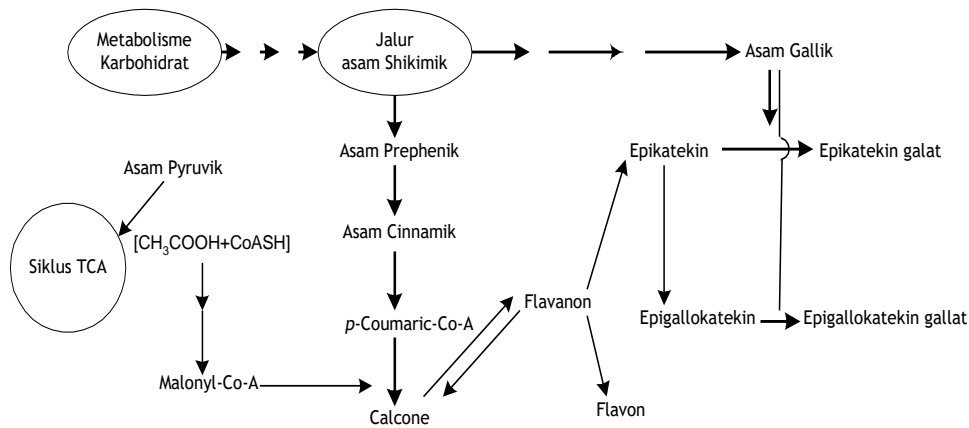
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Suhu dan waktu ekstraksi memainkan peran kunci dalam pembentukan dan penurunan senyawa theaflavin dalam ekstrak teh. Gambar 1 menyatakan hubungan kadar theaflavin terhadap waktu ekstraksi. Semakin lama waktu ekstraksi theaflavin yang diperoleh semakin menurun hingga menit ke-20 relatif konstan perolahannya. Hal ini disebabkan dengan memperlama waktu ekstraksi menyebabkan memperluas kontak fasa antara theaflavin dengan air sebagai fasa kontinyu. Peluang kontak fasa ini menyebabkan degradasi termal theaflavin menjadi thearubigin seperti pathway yang tersaji pada Gambar 2 dan 3. Hal ini karena sifat theaflavin yang termolabil, sehingga ketika terpenetrasi oleh pelarut, menyebabkan theaflavin terdegradasi termal menjadi thearubigin dan kemudian terseret serta menyebrang ke fasa kontinyu.

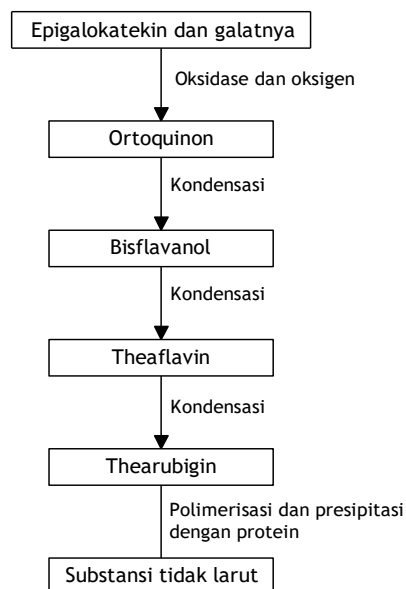
Selama proses fermentasi daun teh hijau menjadi teh hitam maupun teh oolong, komponen polifenol seperti katekin (epigalokatekin dan epigalokatekin galat) akan teroksidasi dengan adanya O<sub>2</sub> dari udara dan enzim polifenol oksidase. Katekin yang teroksidasi dapat mengalami kondensasi membentuk suatu variasi senyawa kompleks, salah satu yang utama (dominan) selanjutnya disebut theaflavin dan thearubigin [13-17].



Gambar 1. Pengaruh waktu ekstraksi teh oolong terhadap kadar theaflavin terkestrak pada suhu 100°C



Gambar 2. Jalur biosintesis katekin pada daun teh



Gambar 3. Skema oksidasi dan degradasi termal

Lebih lanjut katekin teroksidasi dengan sendirinya menjadi unsur oksidasi yang sangat kuat yang dapat menyebabkan oksidasi non enzimatis substansi pucuk. Secara kuantitatif dapat dikatakan bahwa pembentukan theaflavin dan thearubigin merupakan reaksi terpenting yang terjadi selama oksidasi enzimatis polifenol teh, tetapi oksidasi substansi lain oleh katekin yang teroksidasi merupakan kemungkinan penting yang pokok dalam menentukan kualitas teh oolong [16-20].

Plot data waktu vs konsentrasi theaflavin pada software Origin Pro diperoleh grafik dan persamaan eksponensial model yang sesuai yaitu  $y=14,91488 e^{-0,2631x} + 0,11865$ , dimana nilai  $R^2$  sebesar 0.99161. Kondisi operasi terbaik pada penelitian ini diperoleh pada waktu ekstraksi 10 menit dengan kadar theaflavin terkestrak sebesar 1,19% dari kadar theaflavin total teh oolong.

### KESIMPULAN

Proses ekstraksi theaflavin dari teh oolong dengan pelarut air pada suhu 100°C, dengan waktu ekstraksi yang semakin lama menghasilkan kadar theaflavin yang semakin berkurang dikarenakan terjadinya degradasi thermal theaflavin menjadi thearubigin. Persamaan eksponensial model yang diperoleh yaitu  $y=14,91488 e^{-0,2631x} + 0,11865$ , dimana nilai  $R^2$  sebesar 0.99161. Kondisi operasi terbaik didapatkan pada waktu ekstraksi 10 menit dengan kadar theaflavin sebesar 1,19% dari kadar theaflavin total teh oolong.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh Universitas Diponegoro melalui Penelitian Riset Pengembangan dan Penerapan 2020

### DAFTAR PUSTAKA

1. P. Zhou, X.L. Yang, X.G. Wang, B. Hu, L. Zhang, W. Zhang, 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature*. 579, 270–273.
2. Jia HP, Look DC, Shi L, Hickey M, Pewe L, Netland J, et al. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol*. 2005;79(23): 14614–21.
3. Y. Wan, J. Shang, R. Graham, R.S. Baric, F. Li, 2020. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS, *J Virol*. 94(7), e00127-20.
4. M.A. Tortorici, D. Veesler, 2019. Structural insights into coronavirus entry. *Adv Virus Res*. 105, 93–116.
5. J. Lung, Y.S. Lin, Y.H. Yang, Y.L. Chou, L.H. Shu, Y.C. Cheng, H.T. Liu, C.Y. Wu, 2020. The potential chemical structure of anti-SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. *Journal of Medical Virology*. 1-5.
6. M.E. Yulianto, V. Paramita, I. Hartati, 2019. Recovery Theaflavin dan Thearubigin dari teh Hitam melalui Ekstraksi Air Subkritis, Laporan penelitian. Tidak Diterbitkan. Sekolah Vokasi. Universitas Diponegoro: Semarang.
7. K. Akita, J. P. Associates, & D. Building, 2008, Patent Application Publication ( 10 ) Pub . No .: US 2008 / 0283851 A1 Patent Application Publication, 1(19).
8. R.S. Mohamed, G.A. Mansoori, 2002, The Use of Supercritical Fluid Extraction Technology in Food Processing, *Food Technology Magazine*. London: The World Markets Research Centre.
9. I. Hartati, Y. Anas, L. Kurniasari, 2015, Standardization of Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Extract Obtained by Hydrotropic Microwave Assisted Extraction, *International Journal of Pharm Tech Research*. 8, 10.
10. M.E. Yulianto, V. Paramita, 2015, Mass transfer coefficient in ginger oil extraction using microwave hydrotropic solution, 2nd International Conference Chemical and Material Engineering.
11. Z. Chao, Y. Ri-fu, & Q. Tai-qiu, 2013, Ultrasound-enhanced subcritical water extraction of polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Separation and Purification Technology*. 120, 141-147.
12. A.A. Akuli, A. Pal, G. Bej, T. Dey, A. Ghosh, B. Tudu, N. Bhattacharyya, R. Bandyopadhyay, 2016, A machine vision system for estimation of theaflavins and thearubigins in orthodox black tea, *International Journal of Smart Sensing and Intelligent System*. 9(2), 731.
13. E.A.H. Roberts, 1962, Economic importance of flavonoid substances: tea fermentation, *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. New York: Pergamon. 468–510.
14. E.A.H. Roberts, R. Smith, 1961, Spectrophotometric measurements of theaflavins and thearubigins in black tea liquors in assessments of quality in teas, *Analyst*. 86, 94–98.
15. M.A. Bokuchava, N.I. Skobeleva, 1969, The chemistry and biochemistry of tea and tea manufacture, *Adv. Food Res*. 17, 215–292.
16. H.N. Graham, 1992, Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, *Preventive Med*. 21, 334–350.
17. T. Yamanishi, 1995, Special Issue on Tea, *Food Reviews International*. 11(3), 371-546.
18. W.O. James, E.A. Roberts, H. Beevers H, P.C. De Kock, 1948, The secondary oxidation of amino-acids by the catechol oxidase of belladonna, *Biochem J*. 43(4), 626–636.

19. E.M. Trautner, & E.A.H. Roberts, 1950, The chemical mechanism of the oxidative deamination of amino acids by catechol and polyphenylase, *Ausf. J. Sci. Res. ser. B.* 3, 356-380.
20. V.P. Popov, 1956, Oxidation of amino acids in the presence of tannins and polyphenols of tea, *Biokhimiya.* 21, 383-387