

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Kratom

Kratom (*Mitragyna speciosa*) dikenal dengan nama ‘purik’ atau ‘ketum’ merupakan tanaman tropis dari famili *Rubiaceae* yang berasal dari Asia Tenggara. Kratom banyak tumbuh di Kalimantan, khususnya pada wilayah Kapuas Hulu, difungsikan sebagai minuman herbal yang sering dikonsumsi sehari-hari oleh masyarakat dengan cara diseduh seperti teh. Rebusan daun kratom yang dulunya hanya untuk pengobatan dan menjaga kesehatan mulai banyak dikonsumsi layaknya minuman teh dan kopi sebagai pelengkap pada acara kumpul bersama dalam kegiatan sosial masyarakat (Wahyono dkk., 2019). Daun kratom dapat diasap, dikunyah, diseduh menjadi teh herbal, digunakan bersama kopi atau minuman manis (Hassan dkk., 2013). Masyarakat Malaysia mengenal kratom sebagai minuman (disebut jus atau teh) yang terbuat dari rebusan daun kratom (Singh dkk., 2014).



Gambar 1. Kenampakan Pohon Kratom



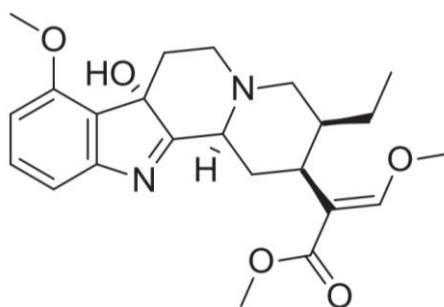
Gambar 2. Panjang dan Diameter Daun Kratom

Kratom secara tradisional digunakan untuk mengurangi rasa nyeri, relaksasi, mengatasi diare, menurunkan panas, dan mengurangi kadar gula darah (Veltri dan Grundmann, 2019). Kratom mengandung 57 senyawa metabolit sekunder, 40

diantaranya termasuk golongan senyawa alkaloid. Kratom juga mengandung polifenol, fenol, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin sehingga bermanfaat untuk pengobatan dan diduga kratom dapat menghambat enzim alfa-amilase (Fitrianshari, 2019; Meireles dkk., 2019; Novindriani, 2013; Nugraha dkk., 2018; Rahmawati dkk., 2013). Senyawa bioaktif seperti alkaloid diketahui dapat menghambat aktivitas alfa-amilase melalui interaksi gugus hidroksil alkaloid golongan isoquinoline palmatine dengan posisi spesifik enzim yang mengakibatkan terjadinya penghambatan non kompetitif, Ikatan ini menyebabkan perubahan bentuk enzim sehingga tidak lagi sesuai dengan substratnya, sehingga mengurangi aktivitas enzim alfa-amilase (Okechukwu dkk., 2020).

2. Alkaloid

Bioaktif daun kratom yang banyak dipelajari dan diuji adalah dari golongan fitokimia alkaloid. Fitokimia adalah senyawa kimia bukan gizi, bukan pula metabolit primer dalam tumbuhan, tetapi merupakan metabolit sekunder, dengan konsentrasi yang rendah berfungsi untuk perlindungan tubuh terhadap penyakit. Pada umumnya alkaloid memiliki satu buah atom nitrogen atau lebih dengan sifat basa (Siahaan dan Sianipar, 2017). Senyawa ini biasanya ditemukan pada daun-daunan yang memiliki rasa pahit dan terdapat pada makhluk hidup dengan jumlah yang kecil. Alkaloid umumnya sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam pelarut organik non polar seperti dietil eter, kloroform dan lain-lain (Julianto, 2019). Struktur alkaloid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Senyawa Alkaloid
Sumber: Haron dan Ismail, 2014

Jenis alkaloid utama yang berhasil diisolasi dalam kratom khususnya bagian daun termasuk tipe indol yaitu senyawa mitraginin dan 7-hidroksimitraginin. Mitraginin menyusun sekitar 66% sedangkan 7-hidroksimitraginin sebesar 2% dari total alkaloid (Firmansyah dkk., 2021). Mitraginin menyumbang 12% dari total kandungan alkaloid dalam kratom asal Malaysia dan 66% dari Kratom asal Thailand (Elsa, 2016).

Senyawa alkaloid lain yang telah berhasil diisolasi dari daun kratom seperti painantein, spesioginin, spesiosiliatin (Compton dkk., 2014). Penelitian Boffa dkk. (2018) membuktikan bahwa total alkaloid pada daun kratom tulang merah asal Malaysia mengandung 61,8% total alkaloid dalam ekstrak, sedangkan daun kratom tulang merah dari Bali mengandung 81,8% total alkaloid dalam ekstrak. Penelitian tentang alkaloid sebagai bahan aktif dalam beberapa tanaman obat untuk menurunkan kadar glukosa darah telah dilakukan. Senyawa alkaloid golongan furoquinolines tanaman *Melicope lunu-ankenda* dan *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley mampu menghambat enzim alfa-amilase dengan masing-masing daya inhibisi 48,71% dan 46,36% (Nurjanah dkk., 2020). Amino alkaloid tanaman *Angle marmelos* (Linn.) Corr. Serr mengandung aegeline dan marmeline dilaporkan signifikan menurunkan glukosa darah (Sharma dkk., 2018).

3. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh (Werdhasari, 2014). Ketidakseimbangan antara antioksidan dengan radikal bebas menimbulkan stres oksidatif yang berhubungan dengan berbagai macam penyakit. Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron pada bahan radikal bebas yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010).

Secara umum klasifikasi antioksidan didasarkan pada fungsi dan mekanisme kerja yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier (Sayuti dan Yennina, 2015).

1. Antioksidan primer mencegah pembentukan senyawa radikal baru dengan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya

sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal.

2. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidropersida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau menonaktifkan singlet oksigen.
3. Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas.

Klasifikasi antioksidan berdasarkan sumbernya dibedakan menjadi dua macam, yaitu antioksidan alami merupakan hasil ekstraksi bahan alami dan antioksidan buatan (sintetik) yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia (Sahar, 2016). Penggunaan antioksidan sintetik dibatasi oleh aturan pemerintah karena jika penggunaannya melebihi batas justru dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik, sehingga dibutuhkan antioksidan alami yang aman (Deddy, 2013). Bahan pangan yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami umumnya diperoleh dari tumbuhan, yaitu rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-biji sereal dan sayuran (Junaidi, 2007).

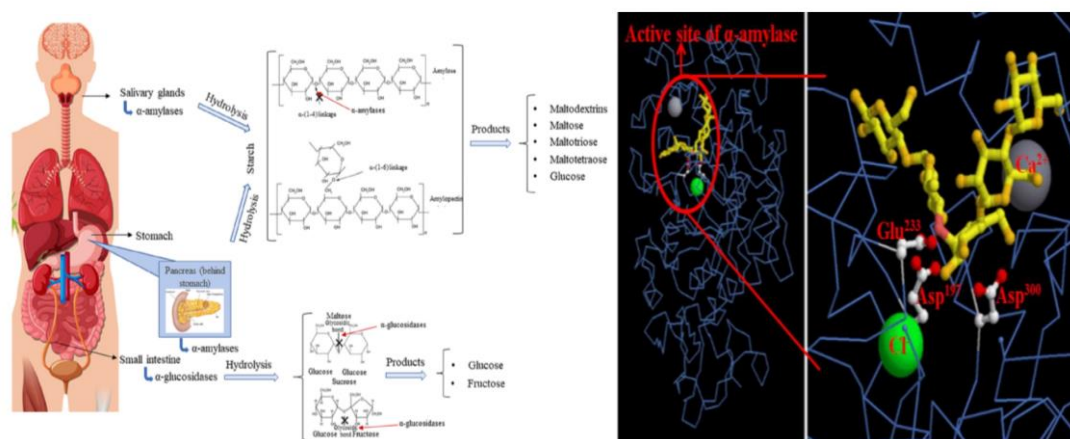
Senyawa fitokimia yang dapat berperan sebagai antioksidan diantaranya adalah senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, steroid, dan terpenoid (Marliana, 2007). Penelitian Novello dkk. (2016) menyatakan tanaman *Croton echioides* mengandung indol alkaloid moschamin yang menunjukkan sifat antioksidan kuat dalam uji penangkal radikal in vitro (*2,2-difenil 1-pikrilhidrazil*, DPPH). Bhaduri dan Fulekar (2012) menyatakan indol alkaloid sebagai antioksidan dapat menghambat enzim dengan mengikat logam pada gugus sulfidryl serta defisiensi logam esensial dalam metaloprotein atau kompleks metalprotein. Almagro dkk. (2015) meneliti tanaman obat *Catharanthus roseus* dari famili *Apocynaceae* yang memproduksi terpenoid indol alkaloid (TIAs) kaya manfaat sebagai obat seperti antidiabetik.

Hasil uji teh daun pegagan (*Centella asiatica*, L. Urban) dengan Penambahan ekstrak peppermint 4% sebagai perlakuan terbaik menunjukkan aktivitas antioksidan

limonene, cineole, menthone, menthol serta pulegone sebesar 55,22% dan mengandung senyawa alkaloid (Anggraini dkk., 2014). Teh herbal bunga gumitir (*Tagetes erecta* L.) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC_{50} terendah sebesar 257,65 mg/L (Kusuma dkk., 2020). Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada sampel teh daun sirsak (*Annona muricata* Linn.), yaitu sebesar 76,06% (Adri dan Hersoelistyorini, 2013). Ekstrak air kombinasi daun papasan dan daun sembung memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas DPPH tertinggi yang dinyatakan dengan IC_{50} sebesar $1,58 \pm 0,06$ mg/mL dan aktivitas penghambatan alfa-amilase tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $1,29 \pm 0,02$ mg/mL (Atikawati dkk., 2019). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, senyawa serupa juga ditemukan pada kratom sehingga kratom diduga dapat menghambat radikal bebas dan alfa-amilase.

4. Alfa-amilase

Alfa-amilase merupakan enzim yang menyerang bagian dalam rantai pati. Pati adalah makromolekul yang terdiri dari dua jenis polisakarida, amilosa (linier (1→4)) dan amilopektin ((1→6) bercabang). Alfa-amilase menghidrolisis ikatan-(1→4)-glikosidik dalam molekul pati yang mengarah pada produksi maltosa, maltotriosa, maltotetraosa, maltodekstrin, dan glukosa (Robyt, 2008).



Gambar 4. Letak, Peran dan Situs Aktif Enzim Alfa-amilase
Sumber: Papoutsis dkk., 2021; Sun, 2017

Gambar 4 menunjukkan pada manusia, alfa-amilase ditemukan di kelenjar ludah (saliva) yang mengeluarkan enzim ke dalam mulut dan pankreas yang mengeluarkan enzim ke dalam usus kecil. Peran amilase adalah mempercepat hidrolisis pati. Pada struktur tiga dimensi sisi aktif enzim alfa-amilase terdapat kalsium, ion klorida dan asam amino non esensial (Glu233, Asp197, Asp300). Ion

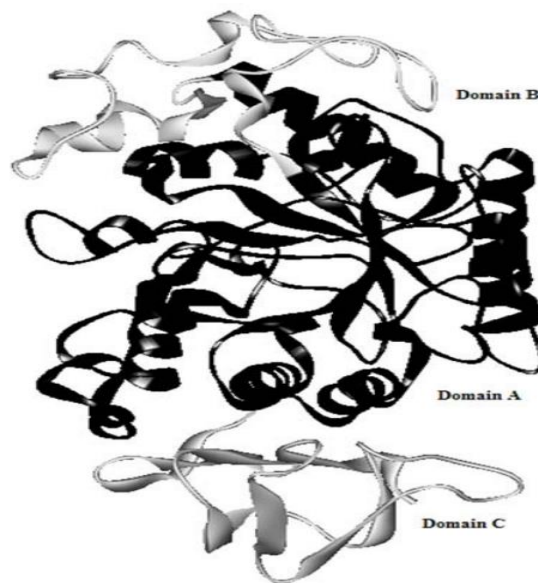
kalsium dan klorida penting untuk pemeliharaan struktur dan aktivitas katalitik alfa-amilase (Kim dkk., 2014; Robyt, 2008).

Enzim alfa-amilase akan bekerja dengan cara bereaksi dengan molekul substrat (pati), dengan cara memutus ikatan alfa-(1→4)-glikosidik pada polisakarida. Mekanisme kerja enzim alfa-amilase dalam keadaan normal dimulai dalam mulut akibat kerja enzim alfa-amilase pada kelenjar saliva, selanjutnya pencernaan karbohidrat oleh enzim alfa-amilase terjadi di pankreas. Enzim alfa-amilase, akan memutus ikatan alfa-(1→4)-glikosidik dan merubah pati menjadi oligosakarida atau disakarida, selanjutnya akan dipecah menjadi glukosa oleh enzim alfa-glukosidase di dalam usus halus (*brush border*) dan diserap oleh tubuh. Glukosa memasuki aliran darah sebagai glukosa bebas untuk dibawa ke jaringan. Glukosa di dalam otot dioksidasi melalui glikolisis untuk menghasilkan energi dan disimpan sebagai glikogen, sedangkan di jaringan adiposa, glukosa diubah menjadi asam lemak dan trigliserida. Aktivitas alfa-amilase pankreas manusia merubah pati menjadi glukosa berpengaruh pada peningkatan kadar glukosa setelah makan, siklus ini terjadi tanpa henti pada orang yang sehat, tetapi beberapa kasus terjadi aktivitas enzim alfa-amilase yang berlebihan serta terjadi defisiensi insulin atau resistensi insulin, sehingga terjadi penumpukan glukosa dalam darah yang mengarah pada hiperglikemia (Ariandi, 2016). Pada kasus tertentu, terjadi aktivitas enzim alfa-amilase yang berlebihan sehingga harus dihambat menggunakan metabolit sekunder dalam jumlah yang cukup agar tidak terjadi pemupukan glukosa dalam darah akibat pemecahan pati yang terus-menerus.

5. Mekanisme Penghambatan Alfa-amilase

a. Struktur Alfa-amilase

Alfa-amilase mengandung tiga domain struktural A, B dan C seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5. Domain A adalah yang terbesar dan membentuk delapan untai paralel β -barrel serta terdiri dari tiga residu situs aktif. Biasanya, loop yang menghubungkan β -untai ke α -heliks yang berdekatan membawa residu asam amino dari situs aktif. Domain C hanya terkait secara longgar dengan dua domain lainnya dan fungsinya tidak diketahui. Domain B membentuk situs pengikatan kalsium yang diposisikan berdekatan dengan dinding β -barrel domain A (Singh dan Guruprasad, 2014). Enzim alfa-amilase bekerja optimum pada pH 5,6-7,2 pada suhu 50°C (Chang, 2020; Yandri dkk., 2020).



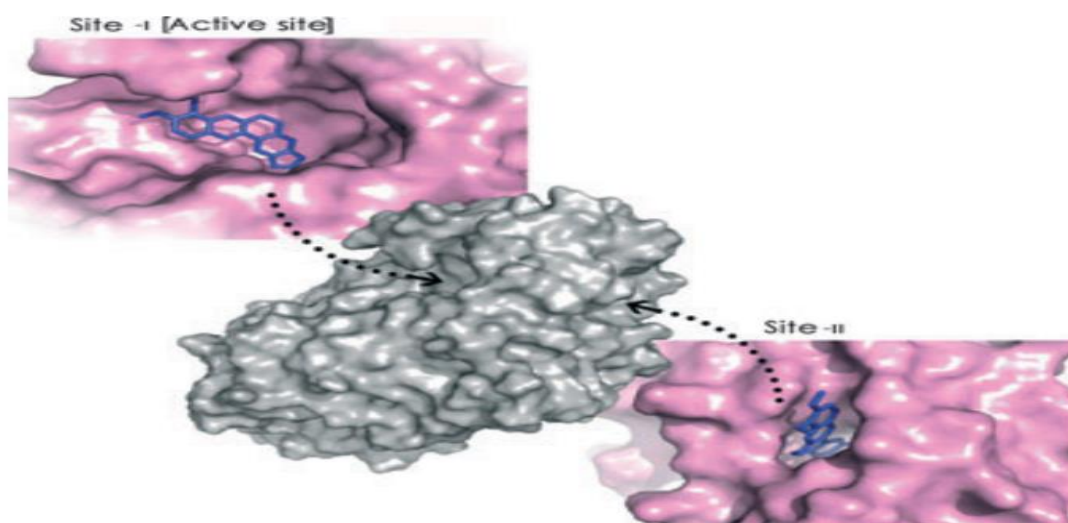
Gambar 5. Representasi Pita Padat Alfa-amilase
 Sumber: Singh dan Guruprasad, 2014

b. Bioavailability Alfa-amilase

Kadar glukosa darah normal dipertahankan dengan cara menghambat enzim alfa-amilase menggunakan senyawa inhibitor yang berperan untuk mengikat dan menginaktifkan enzim alfa-amilase sehingga menunda dan memperlama waktu cerna karbohidrat, menyebabkan penurunan laju penyerapan glukosa dan mencegah peningkatan kadar glukosa (Prahesti dkk., 2018). Enzim alfa amilase dapat dihambat secara kompetitif atau non kompetitif. Penghambatan kompetitif dan non kompetitif suatu enzim dikaitkan dengan *reversible* pengikatan inhibitor dengan enzim atau enzim dengan substrat (Sun, 2017). Jika terjadi penghambatan secara kompetitif maka senyawa penghambat akan berkompetisi dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif. Penghambatan secara non kompetitif terjadi ketika senyawa penghambat berikatan dengan sisi alosteriknya dan menyebabkan struktur enzim berubah. Gugus hidroksil dalam struktur kimia metabolit sekunder diduga dapat menyebabkan pembentukan ikatan hidrogen dengan gugus polar di situs alosterik. Hasil interaksi ini akan mengubah konfigurasi molekul enzim serta sifat hidrofilik dan hidrofobiknya sehingga menyebabkan penurunan aktivitas enzim (Wang dkk., 2004). Senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, polifenol dan tanin dapat menghambat aktivitas

enzim alfa-amilase yang berlebihan sehingga mencegah penumpukan glukosa di dalam darah (Sangi dkk., 2008).

Penelitian yang menggunakan bahan alami sebagai senyawa bioaktif telah diungkap seperti alkaloid diketahui dapat menghambat aktivitas alfa-amilase. Interaksi gugus hidroksi senyawa isoquinoline palmartine tanaman *Coscinium fenestratum* yang merupakan alkaloid berikatan dengan posisi spesifik enzim alfa-amilase yang mengakibatkan terjadinya penghambatan non kompetitif, Ikatan ini menyebabkan perubahan bentuk enzim sehingga tidak lagi sesuai dengan substratnya, menyebabkan penurunan aktivitas enzim alfa-amilase (Okechukwu dkk., 2020).



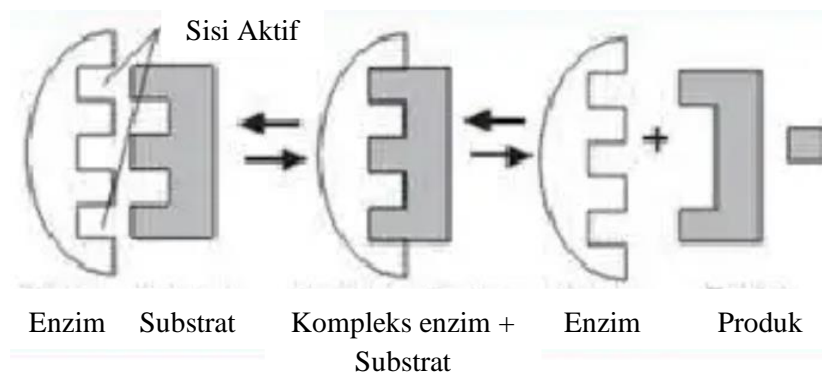
Gambar 6. Situs Pengikatan Berberin dan Enzim Alfa-amilase
Sumber: Tintu dkk., 2012

Gambar 6 menunjukkan alkaloid golongan isoquinoline dari berberin. Ligan yang merupakan molekul sederhana yang dalam senyawa kompleks bertindak sebagai donor pasangan elektron. Ligan akan memberikan pasangannya kepada atom yang menyediakan orbital kosong. Interaksi antara ligan dan atom pusat menghasilkan ikatan koordinasi sehingga dapat berikatan dengan alfa-amilase pada dua tempat yang berbeda. Situs I (situs aktif) dibentuk oleh sejumlah asam amino bermuatan dan polar (hidrofilik) yang berinteraksi dengan substrat sedangkan situs II bersifat hidrofobik (Tintu dkk., 2012). Jika terjadi penghambatan kerja enzim alfa-amilase maka, pati yang tidak dicerna oleh enzim tersebut akan menuju usus besar dan jumlahnya akan berkurang karena difermentasi oleh mikroflora usus besar (Meutia, 2010).

c. Mekanisme Kerja Enzim

Substrat akan berikatan dengan sisi aktif suatu enzim, setelah berikatan dengan bagian sisi aktif enzim, substrat bersama-sama enzim kemudian membentuk suatu kompleks enzim-substrat, selanjutnya terjadi proses katalisis oleh enzim untuk membentuk produk. Ketika produk sudah terbentuk enzim menjadi bebas kembali untuk selanjutnya bereaksi dengan substrat. Teori yang menjelaskan cara kerja enzim salah satunya adalah gembok dan kunci (*lock and key theory*).

Enzim diumpamakan sebagai gembok yang mempunyai bagian kecil yang dapat mengikat substrat. Bagian enzim yang dapat berikatan dengan substrat disebut sisi aktif. Substrat diumpamakan kunci yang dapat berikatan dengan sisi aktif enzim. Sistem enzim juga ditemukan sisi alosterik yang diibaratkan sebagai sakelar yang dapat menyebabkan kerja enzim meningkat maupun menurun. Apabila sisi alosterik berikatan dengan penghambat (inhibitor), konfigurasi enzim akan berubah sehingga aktivitasnya berkurang (Suhara, 2009). Cara kerja enzim menurut teori gembok dan kunci disajikan pada Gambar 7.

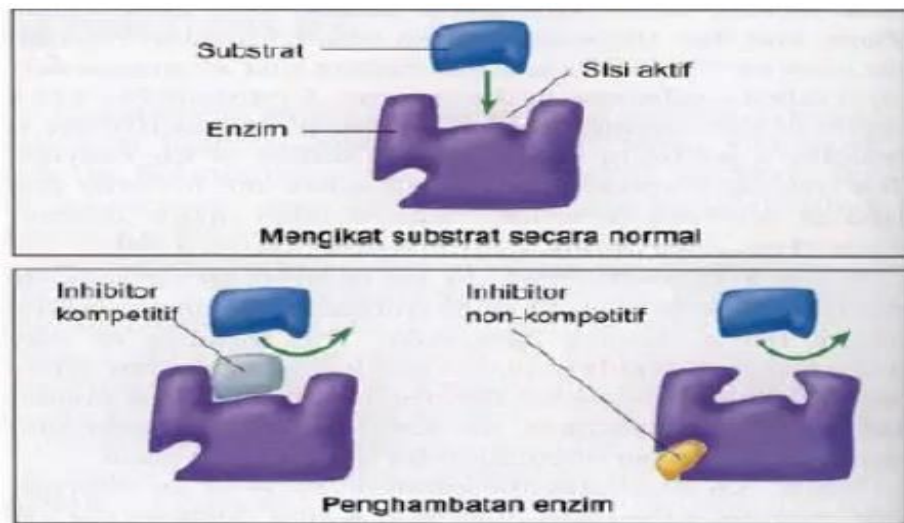


Gambar 7. *Lock and Key Theory*

Sumber: Suhara, 2009

Gambar 8 menunjukkan mekanisme kerja inhibitor kompetitif dan non kompetitif. Inhibitor enzim adalah senyawa yang menurunkan kecepatan reaksi melalui pengikatan dengan enzim, merupakan zat yang dapat menghambat kerja enzim. Bersifat *reversible* dan *irreversible*. Inhibitor *reversible* dibedakan menjadi inhibitor kompetitif dan non kompetitif. Inhibitor kompetitif menghambat kerja enzim dengan menghambat sisi aktif enzim. Penghambatan bersifat dapat kembali seperti semula dan dapat dihilangkan dengan menambah konsentrasi substrat. Inhibitor non kompetitif biasanya berupa senyawa kimia yang tidak mirip dengan substrat dan

berikatan pada sisi selain sisi aktif enzim. Ikatan ini menyebabkan perubahan bentuk enzim sehingga sisi aktif tidak lagi sesuai dengan substratnya (Campbell dkk., 2010).



Gambar 8. Mekanisme Kerja Inhibitor Kompetitif dan Non Kompetitif
Sumber: Campbell dkk., 2010

6. Pengolahan Teh

Teh adalah minuman mengandung tanin dan polifenol yang dibuat dengan cara menyeduh daun, pucuk daun atau tangkai daun yang dikeringkan dengan air panas. Daun teh yang dimaksud pada definisi tersebut adalah *Camellia sinensis*, tetapi proses ini juga dilakukan dalam pembuatan teh hitam dari daun herbal lainnya. Seiring dengan perkembangan teknologi, meningkatnya permintaan dan kesadaran masyarakat akan kesehatan maka banyak dikembangkan teh yang mengandung bahan alami berkhasiat yang merupakan hasil olahan selain dari daun teh (*Camelia sinensis*). Bahan-bahan untuk pembuatan teh herbal diperoleh dari daun, biji, akar, atau buah kering (Amanto dkk., 2019).

Pengolahan teh merupakan suatu tindakan untuk memberi kondisi yang optimal pada daun teh agar terjadi proses reaksi kimia dalam sel-sel teh. Katekin, polifenol oksidase, dan kafein merupakan senyawa-senyawa yang penting dalam teh yang akan diolah. Selama proses fermentasi, polifenol mengalami oksidasi dengan bantuan enzim polifenol oksidase, dan diikuti reaksi-reaksi non-enzimatis menghasilkan senyawa-senyawa yang sangat berpengaruh terhadap warna dan citarasa seduhan teh. Selain itu, proses pengolahan pada daun teh juga akan berpengaruh terhadap senyawa kimia pada teh yang dihasilkan. Teh fermentasi (teh hitam) dibuat

dengan cara memanfaatkan terjadinya proses oksidasi enzimatik terhadap kandungan katekin teh (Hartoyo, 2003). Proses pembuatan teh hijau yang terbilang sederhana menyebabkan kandungan katekin tetap terjaga. Adanya proses fermentasi pada teh hitam menyebabkan sebagian besar katekin teroksidasi menjadi theaflavin. Proses inilah yang menyebabkan perbedaan kandungan katekin dari teh hitam dan teh hijau. Proses pengolahan teh meliputi proses pelayuan, penggulungan, fermentasi (oksidasi enzimatik) dan pengeringan. Keempat proses ini akan mempengaruhi mutu teh (Kunarto, 2005).

a. Pelayuan

Pelayuan bertujuan mengubah kondisi fisik daun dari keadaan segar menjadi lemas dengan cara menguapkan air serta menginaktivasi enzim (Rohdiana, 2015). Proses pelayuan menyebabkan susut bobot bahan karena air menguap. Penurunan kadar air selama pelayuan diikuti dengan meningkatnya permeabilitas membran sel, sehingga dapat terjadi kontak antara senyawa-senyawa polifenol dengan enzimnya, terlihat pada kenampakan daun yang semakin pucat selama proses pelayuan. Selama pelayuan terjadi peningkatan kerja enzim, peningkatan kandungan kafein, komponen senyawa kompleks akan terurai menjadi komponen volatil pembentuk aroma, terjadi degradasi protein menjadi asam amino, terjadi pembongkaran sebagian klorofil menjadi feoforbid dan terbentuk gula sederhana (Deb dan Pou, 2016). Selama proses pelayuan, pucuk teh masih mengalami respirasi yaitu pembongkaran gula yang akan menghasilkan energi dan karbondioksida.

b. Penggulungan

Proses penggulungan bertujuan untuk memecah dinding sel daun, meratakan cairan sel ke permukaan pucuk, menggulung pucuk, mengecilkan pucuk layu dan mengeluarkan cairan sel ke permukaan pucuk layu sehingga senyawa polifenol akan bereaksi dengan oksigen atau disebut oksidasi enzimatik. Senyawa katekin terdapat di dalam vakuola yang dipisahkan oleh membran vakuola dari sitoplasma, sedangkan enzim polifenol oksidase terdapat dalam kloroplas. Penggulungan mengakibatkan dinding sel rusak, membran vakuola pecah sehingga enzim katekin dan enzim polifenol oksidasi saling bereaksi. Terjadinya oksidasi enzimatik ini diikuti dengan perubahan warna pucuk teh dari hijau menjadi coklat tembaga. Warna hijau

berkurang bahkan hilang karena adanya enzim klorofilase yang menyebabkan klorofil terhidrolisa menjadi klorofilida dan fitol. Klorofilida akan kehilangan ion Mg menjadi senyawa feoforbida.

c. Fermentasi (Oksidasi Enzimatis)

Oksidasi enzimatis adalah proses fermentasi dalam produksi dan pengolahan teh hitam yang tidak menggunakan mikroba sebagai sumber enzim melainkan enzim polifenol oksidase yang terdapat pada daun teh itu sendiri (Rohdiana, 2015). Proses fermentasi bertujuan memberikan kesempatan pucuk teh agar terjadi oksidasi enzimatis senyawa polifenol sehingga terbentuk theaflavin dan thearubigin yang merupakan senyawa pembentuk aroma dan warna yang khas pada pengolahan teh hitam. Fermentasi dimulai sejak pucuk memar akibat penggulungan yaitu pecahnya dinding sel dan berakibat pada respon aktivitas enzim polifenol oksidase yang merubah polifenol menjadi theaflavin dan thearubigin yang merupakan senyawa pembentuk aroma dan warna yang khas pada pengolahan teh hitam. Oksidasi senyawa polifenol, terutama epigalokatekin dan galatnya menghasilkan quinon-quinon. Quinon mengoksidasi lebih lanjut menjadi bisflavonol, theaflavin dan thearubigin. Theaflavin berhubungan erat dengan karakteristik air seduhan seperti kesegaran dan kecerahan. Thearubigin menentukan kemantapan seduhan dan warna ampas seduhan.

Dua metode fermentasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode fermentasi teh hitam dan metode fermentasi masyarakat Kapuas Hulu. Fermentasi (oksidasi enzimatis) metode teh hitam dilakukan dengan cara menghamparkan daun pada suhu ruang selama ± 3 jam (udara disediakan secara bebas) hingga daun berwarna hijau kehitaman (Rahayu dkk., 2015). Metode fermentasi teh hitam dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Metode Fermentasi Teh Hitam

Proses fermentasi (oksidasi enzimatis) metode masyarakat Kapuas Hulu diawali dengan memasukkan daun kratom segar ke dalam kantong plastik transparan kemudian kantong diikat rapat dan dijemur selama 4 hari sehingga didapatkan daun kratom yang berwarna hijau kemerahan (Wahyono dkk., 2019). Metode fermentasi masyarakat Kapuas Hulu dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Metode Fermentasi Masyarakat Kapuas Hulu

d. Pengeringan

Pengeringan bertujuan menghentikan oksidasi enzimatis senyawa polifenol dan menurunkan kadar air daun yang telah difermentasi sehingga tahan lama disimpan dan mudah ditangani. Pada saat fermentasi terjadi kondensasi dari zat-zat yang teroksidasi. Kondensasi yang berlebihan akan menghasilkan zat-zat yang tidak larut. Hal ini akan menurunkan mutu teh hitam, oleh karena itu dilakukan proses pengeringan. Penurunan kadar air akibat pengeringan akan memperpanjang masa simpan, karena pada kadar air rendah, jamur tidak dapat tumbuh sehingga kerusakan remahan atau bubuk teh akibat kontaminasi dapat dihindarkan. Selama pengeringan juga terbentuk aroma yang khas akibat karamelisasi pati.

B. Kerangka Konsep

Terjadi penurunan alkaloid nikotin pada daun tembakau selama fermentasi. Nikotin tembakau menurun sebanyak 80-95% dan terjadi penguapan dari daun terhitung tidak lebih dari 8% dari total kehilangan nikotin, sejumlah besar nikotin yang hilang diubah menjadi produk lain selama fermentasi (Frankenburg dkk., 1952).

Selama *curing*, tembakau matang dan terlalu matang signifikan memproduksi banyak alkaloid minor daripada tembakau yang belum matang. Tembakau yang terlalu matang, minor alkaloidnya meningkat selama tahap akhir *curing* (Andersen dkk., 1988).

Teh hijau memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi yaitu 21,2-32,86% DPPH penghambatan dibandingkan teh hitam yaitu 18,82-37,17% DPPH penghambatan (Ismail dkk., 2018). Aktivitas penghambatan DPPH dari senyawa fenolik dalam daun teh berkorelasi positif dengan angka gugus hidroksil.

Leslie dan Gunawan (2019), melakukan pengujian antioksidan daun teh (*Camellia sinensis*), teh hijau (tanpa fermentasi) mempunyai nilai IC_{50} 58,61 $\mu\text{g/mL}$ dan teh hitam (fermentasi) sebesar 137,60 $\mu\text{g/mL}$, maka disimpulkan aktivitas antioksidan teh hijau lebih kuat dibandingkan teh hitam. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa semakin rendah nilai IC_{50} suatu zat, maka aktivitas antioksidan yang dimiliki semakin kuat.

Antioksidan teh hijau secara signifikan lebih tinggi dibandingkan teh hitam dengan nilai $41,06 \pm 1,37$ $\mu\text{g/mL}$ untuk teh hijau dan $21,28 \pm 1,97$ $\mu\text{g/mL}$ untuk teh hitam. Teh hijau dan teh hitam dapat meningkatkan aktivitas alfa-amilase tetapi efek aktivasi enzim yang lebih kuat terdapat pada teh hijau (Yang dan Kong, 2016).

Seduhan teh hijau lebih efektif menurunkan kadar glukosa darah lebih besar yaitu sebesar 2,25 $\mu\text{mol/mL}$ dibandingkan teh hitam dalam aktivitas hipoglikemik. Teh hijau mampu menurunkan kadar glukosa darah lebih besar dibandingkan teh hitam. Hal ini diduga, teh hijau dapat meningkatkan sekresi insulin dari sel β pankreas yang sehat, konsentrasi insulin di darah meningkat sehingga dapat menurunkan kadar glukosa di dalam darah (Bait, 2011).

Penelitian Kusumaningrum dkk. (2013) menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi bunga lotus (*Nelumbo nucifera*) sebesar 32,19% terdapat pada pengolahan teh bunga lotus tanpa fermentasi dan yang terendah adalah 18,13% pada teh bunga lotus fermentasi. Menurunnya daya antioksidan disebabkan oleh banyaknya zat-zat kimia yang berguna bagi kesehatan hilang pada saat produksi teh hitam (dengan proses oksidasi enzimatis).

Proses produksi remahan kratom metode masyarakat Kapuas Hulu dilakukan oksidasi enzimatis dimana udara disediakan secara terbatas. Penyimpanan daun pada plastik menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka kadar air semakin rendah dan mengalami pelayuan serta mengalami perubahan warna menjadi kuning yang diakibatkan oleh substitusi magnesium (Mg) oleh hidrogen (H) dengan bantuan enzim klorofilase membentuk feofitin (Anggraini dan Permatasari, 2017).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan, maka akan dilakukan penelitian pengaruh perbedaan metode pengolahan yang dibedakan melalui metode tanpa fermentasi, metode fermentasi metode teh hitam dan metode fermentasi Kapuas Hulu pada seduhan remahan kratom dalam menghasilkan senyawa potensial yang paling optimal untuk menghambat radikal bebas dan aktivitas enzim alfa-amilase.

C. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini diduga ada pengaruh metode tanpa fermentasi, metode fermentasi teh hitam dan metode fermentasi masyarakat Kapuas Hulu terhadap aktivitas antioksidan dan inhibisi alfa-amilase seduhan remahan kratom serta perlakuan yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan inhibisi alfa-amilase terbaik terdapat pada perlakuan tanpa fermentasi.