

**KESAN SUHU DAN MASA FERMENTASI  
TERHADAP KOMPOSISI KIMIA TERPILIH,  
ANTIOKSIDAN DAN KUALITI TEH MISAI  
KUCING (*ORTHOSIPHON STAMINEUS*)**

**ANI FADHLINA BINTI MUSTAFFA**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

**2008**

**KESAN SUHU DAN MASA FERMENTASI TERHADAP KOMPOSISI KIMIA  
TERPILIH, ANTIOKSIDAN DAN KUALITI TEH MISAI KUCING  
(*ORTHOSIPHON STAMINEUS*)**

**Oleh**

**ANI FADHLINA BINTI MUSTAFFA**

**Tesis yang diserahkan untuk  
memenuhi keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains**

**April 2008**

## **PENGHARGAAN**

Syukur kehadiran Allah dengan limpah rahmat dariNya dapatlah saya menyempurnakan tesis ini. Di sini saya ingin mengucapkan setinggi-tinggi terima kasih buat penyelia projek saya, Dr. Fazilah Ariffin kerana banyak memberi sokongan, tunjuk ajar dan bantuan yang tak ternilai harganya sepanjang projek penyelidikan ini dijalankan. Tidak lupa juga saya tujukan ucapan terima kasih kepada Prof Mohd Azemi Mohd Noor, Prof Zhari Ismail dan pensyarah-pensyarah lain yang telah banyak memberi tunjuk ajar.

Saya juga ingin menunjukan penghargaan yang tak terhingga kepada En. Razak dan staff Pusat Sekretariat Herba, Pusat Pengajian Farmasi, USM dan En. Noor Amin dan staff makmal Biostaq, Kulim kerana telah banyak memberi tunjuk ajar dan berkongsi maklumat semasa melakukan analisis makmal. Tidak lupa juga kepada pembantu-pembantu makmal yang telah banyak memberi nasihat dan bantuan dalam pelaksanaan projek ini.

Akhir sekali, saya menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada suami dan keluarga tercinta serta rakan-rakan yang telah memberi sokongan moral sepanjang projek penyelidikan ini dijalankan.

ANI FADHLINA MUSTAFFA

April 2008

## KANDUNGAN MUKA SURAT

|   | <b>Muka Surat</b> |
|---|-------------------|
| Penghargaan                               | ii                |
| Kandungan Muka Surat                      | iii               |
| Senarai Jadual                            | vii               |
| Senarai Rajah                             | viii              |
| Senarai Singkatan                         | xii               |
| Abstrak                                   | xiii              |
| Abstract                                  | xvi               |
| <br>                                      |                   |
| <b>BAB SATU: PENGENALAN</b>               |                   |
| 1.1 Latar Belakang                        | 1                 |
| 1.2 Objektif Kajian                       | 3                 |
| 1.3 Protokol Penyelidikan                 | 3                 |
| <br>                                      |                   |
| <b>BAB DUA: TINJAUAN LITERATUR</b>        |                   |
| 2.1 Orthosiphon Stamineus ( Misai Kucing) |                   |
| 2.1.1 Pengkelasan                         | 6                 |
| 2.1.2 Morfologi Tumbuhan                  | 7                 |
| 2.1.3 Komposisi Kimia                     | 8                 |
| 2.1.4 Kegunaan Tumbuhan                   | 10                |
| 2.2 Teh                                   |                   |
| 2.2.1 Pengelasan Teh                      | 14                |
| 2.2.2 Jenis Pemprosesan Teh               | 14                |
| 2.2.3 Teh Herba                           | 20                |
| 2.3 Komposisi Kimia Dalam Teh             |                   |
| 2.3.1 Polifenol                           | 25                |
| 2.3.2 Kafein                              | 26                |
| 2.3.3 Asid Amino                          | 26                |
| 2.3.4 Karbohidrat                         | 27                |
| 2.3.5 Lemak                               | 27                |
| 2.3.6 Klorofil                            | 28                |
| 2.3.7 Karotenoid                          | 28                |
| 2.3.8 Asid Organik                        | 28                |
| 2.3.9 Komponen Meruap                     | 28                |
| 2.3.10 Lain-Lain                          | 29                |
| 2.4 Enzim                                 |                   |
| 2.4.1 Definisi                            | 29                |
| 2.4.2 Klasifikasi Enzim                   | 30                |
| 2.4.3 Enzim Polifenol Oksidase (PPO)      | 30                |

|   |    |
|---|----|
| 2.5 Antioksidan   |    |
| 2.5.1 Definisi  | 32 |
| 2.5.2 Pengkelasan   | 33 |
| 2.5.3 Antioksidan Semulajadi  | 34 |
| 2.5.4 Antioksidan Dalam Misai Kucing  | 35 |
| 2.5.5 Kegunaan Antioksidan  | 38 |
| <b>Bab Tiga: Bahan Dan Kaedah</b>   |    |
| 3.1 Penghasilan Teh Misai Kucing  | 40 |
| 3.2 Analisis Kimia  |    |
| 3.2.1 Analisis Proksimat  | 41 |
| 3.2.1.1 Kandungan Lembapan  |    |
| 3.2.1.2 Lemak   |    |
| 3.2.1.3 Gentian Kasar   |    |
| 3.2.1.4 Protein   |    |
| 3.2.1.5 Abu   |    |
| 3.2.2 Penentuan Kandungan Mineral<br>(Magnesium, Kalsium, Sodium, Zink, Kuprum,<br>Ferum Dan Plumbum) | 45 |
| 3.2.3 Penentuan Aktiviti Enzim Polifenol Oksidase (PPO)   | 46 |
| 3.2.4 Penentuan Kandungan Fenolik Total   | 48 |
| 3.2.5 Penentuan Tannin Total  | 48 |
| 3.2.6 Penentuan Aktiviti Kandungan Antioksidan  | 49 |
| 3.2.6.1 Total Aktiviti Antioksidan  |    |
| 3.2.6.2 Aktiviti Penyingkiran Radikal Bebas   |    |
| 3.2.7 Pigmen  | 51 |
| 3.2.7.1 Penentuan Kandungan Teaflavin, Tearubigin<br>Dan Total Warna Likuor                           |    |
| 3.2.7.2 Flavonoid   |    |
| 3.2.7.3 Karotenoid  |    |
| 3.2.7.4 Klorofil  |    |
| 3.3 Analisis Fizikal  |    |
| 3.3.1 Warna   | 55 |
| 3.4 Penentuan Kewujudan Kumpulan Berfungsi  | 56 |
| 3.5 Penilaian Deria   | 56 |
| 3.6 Penentuan Kehadiran Komponen Antioksidan  |    |
| 3.6.1 Penyediaan Sampel   | 58 |
| 3.6.2 Analisis HPTLC  | 58 |
| 3.6.3 Analisis HPLC   | 59 |

|  |     |
|--|-----|
| 3.7 Penentuan Komponen Bukan Meruap Dan Meruap                                 |     |
| 3.7.1 Analisis HPLC  | 60  |
| 3.7.1.1 Penentuan Kandungan Gula   |     |
| 3.7.1.2 Penentuan Kandungan Kafein   |     |
| 3.7.2 Analisis GC-TOF/MS   | 62  |
| <b>Bab Empat: Keputusan Dan Perbincangan</b>                                   |     |
| 4.1 Pemilihan Sampel   | 63  |
| 4.2 Pemrosesan Teh   | 64  |
| 4.3 Analisis Proksimat   | 67  |
| 4.4 Kandungan Mineral  | 75  |
| 4.5 Aktiviti Enzim Polifenol Oksidase (PPO)                                    | 83  |
| 4.6 Kandungan Total Fenolik  | 84  |
| 4.7 Kandungan Total Tannin   | 87  |
| 4.8 Aktiviti Antioksidan   |     |
| 4.8.1 Total Aktiviti Antioksidan (Pengaseian $\beta$ - karotena-Asid Linoleik) | 89  |
| 4.8.2 Aktiviti Penyingkiran Radikal Bebas (DPPH Assay)                         | 93  |
| 4.9 Pigmen   |     |
| 4.9.1 Teaflavin, Tearubigin dan Total Warna Likuor                             | 100 |
| 4.9.2 Flavonoid  | 103 |
| 4.9.3 Karotenoid   | 104 |
| 4.9.4 Klorofil   | 106 |
| 4.10 Warna   | 111 |
| 4.11 Kumpulan Berfungsi  | 116 |
| 4.12 Penilaian Deria   | 129 |
| 4.13 Komponen Antioksidan  |     |
| 4.13.1 Analisis HPTLC  | 138 |
| 4.13.2 Analisis HPLC   | 145 |
| 4.14 Komponen Bukan Meruap Dan Meruap  |     |
| 4.14.1 Analisis HPLC   | 147 |
| 4.14.1.1 Kandungan Gula  |     |
| 4.14.1.2 Kandungan Kafein  |     |
| 4.14.2 Analisis GC-TOF/MS  | 150 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Bab Lima: Kesimpulan</b>               | 158 |
| <b>Bab Enam: Cadangan Kajian Lanjutan</b> | 161 |
| <b>Senarai Rujukan</b>                    | 162 |
| <b>Lampiran</b>                           | 178 |

## SENARAI JADUAL- JADUAL

|            |  | <b>Muka Surat</b> |
|------------|--|-------------------|
| Jadual 2.1 | Komposisi kimia daun teh   | 23                |
| Jadual 2.2 | Komposisi kimia teh hitam  | 24                |
| Jadual 2.3 | Komponen meruap yang disumbangkan oleh asid amino  | 26                |
| Jadual 2.4 | Klasifikasi dan sifat-sifat biokimia enzim   | 30                |
| Jadual 2.5 | Komponen antioksidan yang hadir secara semulajadi dalam makanan.   | 35                |
| Jadual 4.1 | Kandungan total klorofil yang terdapat dalam daun segar dan teh hitam misai kucing   | 112               |
| Jadual 4.2 | Kesan suhu dan masa fermentasi berbeza ke atas nilai warna L*, a*, b*, c* dan hue teh hitam misai kucing                             | 118               |
| Jadual 4.3 | Peratus kepekatan komponen-komponen fenolik dalam sampel daun segar, teh misai kucing komersial dan teh misai kucing yang dihasilkan | 151               |
| Jadual 4.4 | Peratus kepekatan komponen-komponen gula dalam sampel daun segar, teh misai kucing komersial dan teh misai kucing yang dihasilkan    | 154               |
| Jadual 4.5 | Pengelasan sebatian terpena  | 156               |
| Jadual 4.6 | Peratus komponen meruap bagi daun segar dan teh misai kucing yang dihasilkan   | 159               |



## SENARAI RAJAH-RAJAH

|           |   | Muka Surat |
|-----------|---|------------|
| Rajah 2.1 | <i>Orthosiphon stamineus</i> ( Misai Kucing)  | 7          |
| Rajah 2.2 | Pemprosesan teh hijau   | 15         |
| Rajah 2.3 | Teh hijau   | 15         |
| Rajah 2.4 | Pemprosesan teh Oolong  | 16         |
| Rajah 2.5 | Teh Oolong  | 17         |
| Rajah 2.6 | Teh hitam   | 20         |
| Rajah 2.7 | Teh misai kucing  | 21         |
| Rajah 2.8 | Teh herba   | 22         |
| Rajah 4.1 | Aktiviti enzim PPO dalam daun segar dan teh misai kucing pada pelayuan 1, 3 dan 7 hari.                                     | 65         |
| Rajah 4.2 | Kandungan proksimat bagi daun segar dan teh misai kucing  | 74         |
| Rajah 4.3 | Kandungan mineral bagi daun segar dan teh misai kucing  | 82         |
| Rajah 4.4 | Aktiviti PPO teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza  | 84         |
| Rajah 4.5 | Kandungan total fenolik bagi daun segar misai kucing dan teh misai kucing   | 86         |
| Rajah 4.6 | Kandungan total tannin bagi daun segar misai kucing dan teh misai kucing  | 88         |
| Rajah 4.7 | Aktiviti antioksidan bagi ekstrak sampel daun segar dan teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi berbeza              | 90         |
| Rajah 4.8 | Penurunan absorban (470 nm) bagi $\beta$ -karotena dalam teh misai kucing setiap pada suhu fermentasi a) 20 °C dan b) 30 °C | 91         |

|            |   |       |
|------------|---|-------|
| Rajah 4.9  | Korelasi linear antara total aktiviti antioksidan dan kandungan total fenolik pada suhu fermentasi a) 20 °C dan b) 30 °C          | 92-93 |
| Rajah 4.10 | Aktiviti penyingkiran radikal bebas bagi sampel daun segar, teh misai kucing dan komponen penunjuk dan rujukan yang efektif       | 95    |
| Rajah 4.11 | Struktur kumpulan-kumpulan bagi penyingkiran radikal bebas yang efektif   | 96    |
| Rajah 4.12 | Struktur kimia komponen-komponen penunjuk yang hadir dalam misai kucing   | 97    |
| Rajah 4.13 | Struktur kimia komponen-komponen rujukan yang hadir dalam misai kucing  | 97    |
| Rajah 4.14 | Korelasi linear antara aktiviti penyingkiran radikal bebas dan kandungan total fenolik pada suhu fermentasi a) 20 °C dan b) 30 °C | 98-99 |
| Rajah 4.15 | Total TF teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza  | 101   |
| Rajah 4.16 | Total TR teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza  | 102   |
| Rajah 4.17 | Total warna teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza   | 102   |
| Rajah 4.18 | Total flavonoid teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza   | 104   |
| Rajah 4.19 | Total karotenoid teh misai kucing pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza  | 106   |
| Rajah 4.20 | Mekanisme tindakbalas klorofil kehilangan $Mg^{2+}$ dan produk degradasi  | 110   |
| Rajah 4.21 | Nilai $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $c^*$ dan hue bagi teh misai kucing pada suhu 20 °C   | 112   |
| Rajah 4.22 | Nilai $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $c^*$ dan hue bagi teh misai kucing pada suhu 30 °C   | 113   |

|            |   |     |
|------------|---|-----|
| Rajah 4.23 | Spektrum penyerapan IR bagi ekstrak daun segar misai kucing dengan menggunakan pengekstrakan a) metanol b) air suling   | 120 |
| Rajah 4.24 | Spektrum penyerapan IR bagi ekstrak teh misai kucing pada suhu fermentasi 20 °C dan masa fermentasi a) 30 min, b) 60 min, c) 120 min dan d) 180 min dengan pengekstrakan 80% metanol. | 122 |
| Rajah 4.25 | Spektrum penyerapan IR bagi ekstrak teh misai kucing pada suhu fermentasi 30 °C dan masa fermentasi a) 30 min, b) 60 min, c) 120 min dan d) 180 min dengan pengekstrakan 80% metanol. | 124 |
| Rajah 4.26 | Spektrum penyerapan IR bagi ekstrak teh misai kucing pada suhu fermentasi 20 °C dan masa fermentasi a) 30 min, b) 60 min, c) 120 min dan d) 180 min dengan pengekstrakan air suling.  | 126 |
| Rajah 4.27 | Spektrum penyerapan IR bagi ekstrak teh misai kucing pada suhu fermentasi 30 °C dan masa fermentasi a) 30 min, b) 60 min, c) 120 min dan d) 180 min dengan pengekstrakan air suling.  | 128 |
| Rajah 4.28 | Skor min warna, aroma, rasa dan penerimaan keseluruhan ekstrak teh misai kucing bagi suhu 20 °C pada masa fermentasi berbeza  | 134 |
| Rajah 4.29 | Skor min warna, aroma, rasa dan penerimaan keseluruhan ekstrak teh misai kucing bagi suhu 30 °C pada masa fermentasi berbeza  | 134 |
| Rajah 4.30 | Skor min warna, aroma, rasa dan penerimaan keseluruhan bagi ekstrak daun segar, teh bagi suhu 20 °C dan 30 °C yang terpilih dan teh komersial misai kucing                            | 136 |

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| Rajah 4.31 | Serbuk teh misai kucing yang terpilih dan teh komersial  | 136 |
| Rajah 4.32 | Rendaman teh misai kucing yang terpilih dan teh komersial  | 137 |
| Rajah 4.33 | Gambaran standard dan sampel setelah diplotkan di atas plat oleh HPTLC pada a) visible b) 255 nm c) 365 nm setelah dibangunkan dalam “chamber” kaca dengan sistem pelarut kloroform : etil asetat ( 60:40) | 140 |
| Rajah 4.34 | Gambaran standard dan sampel yang diplotkan di atas plat oleh HPTLC pada a) visible b) 255 nm c) 365 nm setelah dibangunkan dengan semburan reagen produk semulajadi-polietilena glikol (NP/ PEG No.28)    | 143 |
| Rajah 4.35 | Gambaran standard dan sampel yang diplotkan di atas plat oleh HPTLC pada a) visible b) 255 nm c) 365 nm setelah dibangunkan dengan semburan reagen anisaldehyd   | 144 |

## SENARAI SINGKATAN

|                   |   |
|-------------------|---|
| <b>ICBN</b>       | International code of Botanical Nomenclature          |
| <b>SEN</b>        | Senensetin  |
| <b>EUP</b>        | Eupatorin   |
| <b>TMF</b>        | 3'-hidroksi-5, 6, 7, 4'- tetrametoksiflavon           |
| <b>RA</b>         | Asid Rosmarinik                                       |
| <b>HPLC</b>       | Kromatografi Cecair Berprestasi Tinggi                |
| <b>HPTLC</b>      | Kromatografi Lapisan Nipis Berprestasi Tinggi         |
| <b>IUB</b>        | Persatuan Biokimia Antarabangsa                       |
| <b>PPO</b>        | Polifenol Oksidase                                    |
| <b>VFC</b>        | Komponen Perisa meruap                                |
| <b>TF</b>         | Teaflavin   |
| <b>TR</b>         | Tearubigin  |
| <b>TLC</b>        | Total Likuor Warna                                    |
| <b>PO</b>         | Peroksidase   |
| <b>LDL</b>        | Lipoprotein Berketumpatan Rendah                      |
| <b>HDL</b>        | Lipoprotein Berketumpatan Tinggi                      |
| <b>AAS</b>        | Spektrofotometer Penyerapan Atom                      |
| <b>PVPP</b>       | Polivinilpirolidon                                    |
| <b>BHA</b>        | Butylated hydroxylanisole                             |
| <b>AA</b>         | Aktiviti Antioksidan                                  |
| <b>DPPH</b>       | 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl                         |
| <b>FRSA</b>       | Aktiviti Penyingkiran Radikal Bebas                   |
| <b>TLC</b>        | Kromatografi Lapisan Nipis                            |
| <b>IBMK</b>       | Isobutil metil keton                                  |
| <b>ETM</b>        | Ekstrak Teh Misai Kucing                              |
| <b>BHT</b>        | Butylated hydroxytoluene                              |
| <b>FTIR</b>       | Spektrometer Inframerah Tranformasi Fourier           |
| <b>GC-TOF/ MS</b> | Gas Chromatography- Time of Flight/ Mass Spectrometer |
| <b>NP/PEG</b>     | Produk semulajadi- polietilena glikol                 |
| <b>PFA</b>        | Prevention Food Adulteration                          |

**KESAN SUHU DAN MASA FERMENTASI TERHADAP KOMPOSISI KIMIA  
TERPILIH, ANTIOKSIDAN DAN KUALITI TEH MISAI KUCING  
(*ORTHOSIPHON STAMINEUS*)**

**ABSTRAK**

Teh Misai Kucing terfermentasi telah dihasilkan dengan menggunakan kaedah pemprosesan teh hitam. Dalam proses teh Misai Kucing daun dilayukan pada 1, 3 dan 7 hari. Pelayuan 1 hari dipilih berdasarkan aktiviti enzim polifenol oksidase (PPO) yang tertinggi. Setelah dilayukan, daun difermen pada suhu 20 dan 30 °C pada masa fermentasi yang berbeza iaitu 30, 60, 120 dan 180 min. Sifat-sifat kimia daun segar dan teh Misai Kucing yang terhasil telah dikaji merangkumi penentuan kandungan proksimat, mineral, aktiviti enzim PPO, kandungan fenolik total, kandungan tanin total, aktiviti antioksidan, aktiviti penyingkiran radikal bebas dan pigmen. Manakala bagi sifat fizikal, hanya analisis warna yang ditentukan ke atas teh Misai Kucing yang terhasil. Kewujudan kumpulan berfungsi dalam daun segar dan teh Misai Kucing yang terhasil pula ditentukan dengan menggunakan Spektrometer Inframerah Transformasi Fourier (FTIR). Kemudian ujian penilaian deria dilakukan bagi memilih sampel teh yang mempunyai suhu dan masa fermentasi terbaik untuk analisis seterusnya. Kehadiran komponen antioksidan dalam daun segar, teh Misai Kucing yang terpilih dan teh komersial ditentukan menggunakan Kromatografi Lapisan Nipis Berprestasi Tinggi (HPTLC) dan Kromatografi Cecair Berprestasi Tinggi (HPLC). Kehadiran komponen bukan meruap dan komponen meruap ditentukan dengan menggunakan HPLC dan *Gas Chromatography- Time of Flight – Mass Spectrometer* (GC/ TOF- MS) bagi formulasi teh yang terpilih. Berdasarkan kajian ke atas kandungan proksimat dan mineral yang

hadir dalam teh Misai Kucing pada pengolahan suhu dan masa fermentasi teh yang berbeza, keputusan menunjukkan kandungan nutrisi teh yang terhasil masih lagi baik untuk kesihatan pengguna berbanding daun segar. Selain itu bagi kesan suhu dan masa fermentasi ke atas aktiviti enzim PPO, kandungan total fenolik dan tanin, total antioksidan aktiviti dan aktiviti penyingkiran radikal bebas menunjukkan penurunan yang signifikan apabila suhu dan masa fermentasi ditingkatkan. Dari segi penentuan pigmen, pigmen teaflavin (TF) dan tearubigin (TR) merupakan pigmen utama dalam teh Misai Kucing berbanding pigmen lain yang dikaji. Peningkatan suhu dan masa fermentasi menyebabkan penurunan TF yang mendadak manakala pigmen TR menunjukkan peningkatan. Keputusan analisis warna menunjukkan apabila suhu dan masa fermentasi ditingkatkan, nilai  $a^*$ ,  $b^*$  dan  $c^*$  meningkat manakala nilai hue dan  $L^*$  menunjukkan penurunan. Kewujudan kumpulan berfungsi bagi daun segar dan teh Misai Kucing menunjukkan kehadiran komponn flavonoid, asid kafeik dan terbitannya dan karotenoid. Ujian penilaian deria yang dilakukan ke atas ekstrak sampel teh Misai Kucing melaporkan teh yang difermen pada suhu 20 °C pada 180 minit dan 30 °C pada 180 minit yang paling disukai oleh panel. Dalam kajian analisis HPTLC hanya kehadiran sinensetin (SEN), eupatorin (EUP), 3'-hidroksi-5, 6, 7, 4'- tetrametoksiflavin (TMF), rutin dan kuersetin yang dapat dikesan dalam daun segar dan teh Misai Kucing berbanding komponen lain yang turut dikaji iaitu asid rosmarinik (RA), katekin, asid kafeik dan  $\beta$ - karotena secara kualitatif. Manakala analisis HPLC hanya dapat menentukan kehadiran SEN, EUP, TMF dan Asid Rosmarinik (RA) secara kuantitatif. Keputusan menunjukkan kandungan SEN, EUP dan TMF adalah lebih rendah dalam daun segar berbanding teh Misai Kucing yang terhasil dan menunjukkan penurunan apabila suhu fermentasi ditingkatkan dari 20 °C kepada 30 °C. Walau bagaimanapun

bagi kandungan RA, kehadirannya adalah lebih tinggi dalam daun segar dan mengalami penurunan apabila diproses menjadi teh dan apabila suhu fermentasi teh ditingkatkan dari 20 kepada 30 °C. Bagi komponen bukan meruap hanya analisis kafein dan gula sahaja dilakukan penentuan kehadirannya. Keputusan menunjukkan tiada kafein yang hadir dalam teh Misai Kucing. Manakala bagi analisis gula, hanya glukosa 6- fosfat, sukrosa, fruktosa dan glukosa dapat dikesan dalam teh yang dikaji. Apabila suhu fermentasi ditingkatkan glukosa 6- fosfat, sukrosa, dan fruktosa menunjukkan peningkatan manakala glukosa menunjukkan penurunan kepekatannya. Bagi analisis komponen meruap pula menunjukkan kehadiran dua jenis kumpulan komponen perisa meruap (VFC) pada sampel yang dikaji iaitu kumpulan pertama yang memberi bau rumput, VFC (I) dan kumpulan kedua yang memberi bau manis bunga , VFC (II). Apabila suhu ditingkatkan kehadiran VFC (I) menunjukkan penurunan manakala VFC (II) menunjukkan peningkatan. Keputusan menunjukkan teh Misai Kucing 30 °C (180 min) yang paling diterima dari penerimaan keseluruhan berdasarkan ujian sensori. Secara kesimpulannya, suhu dan masa fermentasi mempengaruhi kualiti teh Misai Kucing yang dihasilkan.



**THE EFFECTS OF TEMPERATURE AND FERMENTATION TIME ON  
SELECTED CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND QUALITY OF  
CAT WHISKERS ( *ORTHOSIPHON STAMINEUS*) TEA**

**ABSTRACT**

Black tea processing method was used to produce fermented leaves were withered at 1, 3 and 7 days. Withering process at 1 day was chosen based on their highest enzyme polyphenol oxidase (PPO) activity. The leaves were fermented at two different fermentation temperatures (20 and 30 °C) for 30, 60, 120, 180 min. The chemical properties of the fresh leaves and Cat Whiskers teas were analysed for proximate and mineral content, enzyme PPO activity, total phenolics and tannins content, total antioxidant activity, radical scavenging activity and pigments. As for physical analysis, the colour of the fresh leaves and Cat Whiskers teas were analysed. The functional groups of fresh leaves and Cat Whiskers teas were detected by Fourier Transform Infra Red (FTIR) spectrometer. After that, sensory analysis was analysed to choose the best formulation for the next analysis. Antioxidant component of selected Cat Whiskers tea, commercial and fresh leaves were determined by High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). While, non volatile and volatile compound were detected by HPLC and Gas Chromatography- Time of Flight Mass Spectrometer (GC-TOF/MS), respectively. Proximate and mineral content of tea at different fermentation temperature and time showed that the Cat Whiskers teas give a good nutrition for consumer healthy. The results revealed that enzyme PPO activity, total phenolic and tannin content, total antioxidant and radical scavenging activities were declined when fermentation

temperature and time were increased. Theaflavine (TF) and thearubigin (TR) were considered as the major pigments compared to others in Cat Whiskers teas. The TF level decreased while TR level increased with the increase in fermentation temperature and time. For colour determination,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $c^*$  value increased while hue and  $L^*$  value decreased with increase in fermentation temperature and time. FTIR spectrums were showed that the functional group of fresh leaves and Cat Whiskers teas were detected at two frequency range,  $4000-3000\text{cm}^{-1}$  and  $2000-1000\text{cm}^{-1}$ . Cat Whiskers tea fermented at  $20\text{ }^\circ\text{C}$  (180 min) and  $30\text{ }^\circ\text{C}$  (180 min) were selected by most panelist in sensory test and were used for the next analysis. From HPTLC (qualitative) analysis, Sinensetin (SEN), Eupatorin (EUP), 3'-hidroksi-5, 6, 7, 4'- tetramethoxyflavone (TMF), rutin, quercetin and betulinic acid were detected in Cat Whiskers sample. While HPLC analysis were quantified SEN, EUP, TMF and Rosmarinic Acid (RA). The result showed that SEN, EUP and TMF for fresh leaves were the lowest compared to tea and increased when processed to tea. However the concentrations of those components declined with increase in fermentation temperature. While RA component for fresh leaves was the highest compared to tea and decreased when processed to tea and with increase in fermentation temperature. Non volatile compounds (caffeine and sugar content) were detected by HPLC method. The result showed that caffeine was not detected in Cat Whiskers tea. For sugar content, glucose 6- phosphate, sucrose, fructose and glucose were detected exist in Cat Whiskers tea. Glucose 6- phosphate, sucrose and fructose content increased while glucose content decreased with increase in fermentation temperature. Volatile compound were detected by GC-TOF/MS. The results showed that two group of volatile flavour compound (VFC) were detected in fresh leaves and Cat Whiskers teas. Group I VFC (which imparts a green and grassy smell) decreased while

group II VFC (which is responsible for sweet flowery aroma) increased with increase in fermentation temperature. Overall acceptability by panelist of sensory test showed that 30 °C (180 min) tea was the best. As conclusion, fermentation temperature and duration affect the quality of Cat Whiskers tea.

# **BAB SATU**

## **PENGENALAN**

### **1.1 LATAR BELAKANG**

Teh merupakan salah satu jenis minuman yang sangat terkenal di dunia. Teh sangat terkenal disebabkan perisanya yang menyenangkan dan kelebihanannya dalam penjagaan kesihatan seperti menghalang penyakit jantung, barah dan sebagainya. Kini pelbagai jenis tumbuhan herba seperti misai kucing, pegaga, mas cotek dan herba lain diproses untuk menghasilkan teh herba sebagai makanan berfungsi.

Teh herba yang diproses daripada tumbuhan-tumbuhan herba ini selalunya dikenali sebagai salah satu sumber antioksidan. Antioksidan yang diperolehi dalam teh herba ini memainkan peranan yang penting dalam diet yang sihat (Halliwell, 1999; Naithani *et al.*, 2006). Teh herba dilaporkan mengandungi antioksidan semulajadi seperti vitamin A, B6, C, E, polifenol (flavonoid, flavonol, isoflavon, katekin dan kuarsetin), karotenoid, selenium, zink dan fitokimia (Atoui *et al.*, 2005). Antioksidan semulajadi yang hadir dalam teh ini dapat menyingkirkan radikal bebas yang membawa keburukan kepada badan kita.

Radikal bebas merupakan spesies yang wujud secara bebas mengandungi satu atau dua elektron yang tidak berpasang yang mana bertindakbalas dengan molekul lain dengan menderma atau menerima (Madhavi *et al.*, 1996). Radikal bebas ini dihasilkan sama ada secara endogenous (contohnya rantai respiratori, enzim-enzim oksidatif) atau eksogenous (contohnya pencemaran udara, merokok dan toksin). Radikal ini dipercayai boleh menyebabkan kemusnahan asid nukleik dan membran serta menyebabkan penyakit-penyakit seperti katarak, kanser, gout, penuaan, diabetes, Parkinson, Alzhemeir dan lain-lain (Aruoma & Halliwell, 1998)

Misai kucing dikategorikan sebagai salah satu herba yang berpotensi untuk dikomersialkan di Malaysia. Kini, terdapat beberapa produk misai kucing yang terdapat di pasaran, misalnya dalam bentuk minuman dan pil kesihatan. Daun misai kucing merupakan bahagian yang paling banyak mengandungi konstituen merawat penyakit terutamanya komponen antioksidan seperti kumpulan fenolik. Disebabkan fungsi tersebut daun misai kucing mula dikomersialkan secara meluas sebagai teh herba di Asia Tenggara. Di Malaysia misai kucing digunakan sebagai rawatan untuk penyakit-penyakit seperti demam panas, epilepsi, batu karang, hepatitis, rheumatisma dan tekanan darah tinggi. Selain itu, ia juga banyak digunakan untuk merawat penyakit pundi kencing dan ginjal (Khamsah *et al.*, 2000).

Walaupun teh misai kucing amat terkenal di Malaysia, tetapi teh yang telah dikomersialkan hanya melalui proses pengeringan dan pengisaran. Kebanyakan teh yang dihasilkan juga adalah campuran batang dan daun yang mungkin akan menjejaskan perisa dan kualiti akhir teh tersebut.

Banyak kajian untuk mengenalpasti komponen antioksidan telah dilakukan ke atas daun misai kucing ini (Akuwuoh *et al.*, 2004). Walaubagaimanapun kajian terhadap daun yang telah diolah atau diproses secara fermentasi untuk dijadikan teh belum lagi dilakukan. Dalam penyelidikan ini, kajian dilakukan ke atas teh daun misai kucing yang diolah dengan proses fermentasi seperti pemprosesan teh hitam pada suhu dan masa fermentasi yang berbeza. Dengan terhasilnya teh terfermentasi ini diharapkan kualiti akhir teh herba misai kucing ini dapat ditingkatkan dan boleh diterima pengguna.

## **1.2 OBJEKTIF**

Kajian dilakukan ke atas teh misai kucing yang dihasilkan secara fermentasi enzimatik.

Ia adalah bertujuan untuk mencapai beberapa objektif. Objektif kajian ini adalah untuk:

1. Menghasilkan teh misai kucing secara pemprosesan teh terfermentasi (teh hitam) pada suhu dan masa berbeza dan mengkaji sifat fizikal dan kimia teh misai kucing yang terhasil.
2. Menentukan kewujudan kumpulan berfungsi teh misai kucing yang terhasil dengan menggunakan Spektrofotometer Inframerah Transformasi Fourier (FTIR).
3. Menentukan suhu dan masa fermentasi yang terbaik untuk analisis seterusnya melalui ujian penilaian deria.
4. Menentukan kehadiran komponen antioksidan secara kualitatif dengan menggunakan Kromatografi Lapisan Nipis Berprestasi Tinggi (HPTLC) dan secara kuantitatif menggunakan Kromatografi Cecair Berprestasi Tinggi (HPLC) bagi formulasi teh yang terpilih.
5. Menentukan komponen meruap dan bukan meruap menggunakan GC-TOF/MS (Gas Chromatography – Time Of Flight / Mass Spectrometer) dan HPLC bagi formulasi teh yang telah terpilih.

## **1.3 PROTOKOL PENYELIDIKAN**

Kajian ini dijalankan adalah untuk menghasilkan teh Misai Kucing secara fermentasi dan seterusnya mengkaji kesan suhu dan masa fermentasi terhadap komposisi kimia terpilih, antioksidan dan kualiti teh Misai Kucing (*Orthosiphon stamineus*). Tinjauan literatur meliputi penerangan tentang tumbuhan Misai Kucing ini secara menyeluruh dari segi pengkelasannya, morfologi tumbuhan, komposisi kimia dan

kegunaannya. Tinjauan juga dilakukan ke atas teh dari segi pengelasan teh, jenis pemprosesan teh dan teh herba. Komposisi kimia utama dalam teh hitam juga turut diterangkan secara ringkas. Secara umumnya tinjauan juga dilakukan terhadap enzim dan enzim polifenol oksidase yang berperanan penting dalam pemprosesan teh hitam. Akhir sekali, tinjauan dilakukan secara menyeluruh ke atas antioksidan dari segi definisinya, pengelasan antioksidan, antioksidan semulajadi, antioksidan semulajadi dalam misai kucing dan kegunaannya.

Dalam bahagian bahan dan kaedah yang digunakan, pemilihan sampel merupakan kaedah pertama untuk menjalankan kajian seterusnya. Kriteria pemilihan sampel adalah berasaskan struktur fizikal luaran seperti daun muda, segar dan tidak rosak dan pembungkusan yang rapi semasa proses pengangkutan. Kemudian diproses menjadi teh herba berdasarkan kaedah pembuatan teh hitam yang melibatkan proses pelayuan (1,3 dan 7 hari), pengisaran, fermentasi pada suhu dan masa yang berbeza (20 dan 30 °C selama 30, 60, 120 dan 180 minit), pengeringan dan penstoran.

Kajian dilakukan ke atas teh yang telah terhasil dengan menggunakan analisis kimia, fizikal dan penerimaan sensori. Analisis kimia yang dilakukan melibatkan analisis proksimat, penentuan kandungan mineral, aktiviti enzim polifenol oksidase, kandungan fenolik total, tannin total, aktiviti kandungan antioksidan yang melibatkan dua penentuan iaitu penentuan total antioksidan dan aktiviti penyingkiran radikal bebas dan penentuan pigmen iaitu penentuan kandungan teaflavin, tearubigin dan total warna likuor, flavonoid, karotenoid dan klorofil. Manakala bagi analisis fizikal, hanya ujian warna sahaja yang dilakukan dengan menggunakan kolorimeter Minolta untuk memperolehi nilai L\*, a\*, b\*, c\* dan hue. Kemudian penentuan kewujudan kumpulan berfungsi dilakukan dengan menggunakan FTIR.

Penilaian deria dilakukan ke atas sampel-sampel teh tersebut dengan mengkaji warna, aroma, rasa dan tahap penerimaan keseluruhan. Penilaian ini melibatkan tiga sesi di mana dua sesi yang pertama yang menggunakan ujian hedonik bertujuan untuk memilih satu sampel yang terbaik daripada setiap suhu fermentasi 20 dan 30 °C. Dua sampel yang terbaik ini akan digunakan untuk analisis kajian seterusnya. Manakala sesi yang terakhir dilakukan untuk membandingkan penilaian sensori ke atas sampel daun segar, sampel teh komersial dan dua sampel yang telah dipilih dari dua sesi yang pertama dengan menggunakan ujian penyusunan. Pengumpulan data dan analisis data dianalisis dengan menggunakan perisian SPSS versi 12.0.

Penentuan seterusnya dilakukan ke atas sampel daun segar, sampel teh komersial dan dua sampel yang telah dipilih. Penentuan kehadiran komponen antioksidan yang dilakukan melibatkan dua analisis iaitu analisis HPTLC secara kualitatif dan analisis HPLC secara kuantitatif. Akhir sekali penentuan komponen meruap dan bukan meruap dilakukan ke atas sampel tersebut dengan menggunakan HPLC dan GC-TOF/MS. Analisis HPLC yang dilakukan hanya menentukan kehadiran komponen bukan meruap seperti gula dan kafein. Manakala analisis GC-TOF/MS pula digunakan untuk menentukan kehadiran komponen meruap yang hadir dalam setiap sampel tersebut.



## BAB DUA

### TINJAUAN LITERATUR

#### 2.1 Misai Kucing (*Orthosiphon stamineus*)

##### 2.1.1 Pengkelasan Misai Kucing

Berdasarkan sistem pengelasan tumbuhan International Code of Botanical Nomenclature (ICBN), Misai Kucing (*Orthosiphon stamineus*) secara rasminya dikelaskan seperti berikut:

|             |                              |
|-------------|------------------------------|
| Alam:       | Tumbuh-tumbuhan              |
| Divisi:     | Spermatofit                  |
| Sub-divisi: | Angiosperma                  |
| Kelas:      | Dikotiledon                  |
| Order:      | Turbiflora                   |
| Famili:     | Labiatae (Lamiaceae)         |
| Sub-Famili: | Ocimoideae                   |
| Genus:      | Orthosiphon                  |
| Spesies:    | <i>Orthosiphon stamineus</i> |

Menurut Anon (2001), nama saintifik spesies ini juga sinonim dengan nama *Orthosiphon aristatus*, *Orthosiphon grandiflorum* dan *Orthosiphon spicatus*. Ia juga dikenali dengan nama yang berbeza mengikut bahasa vernakular iaitu: Misai Kucing (Malaysia), Kumis Kucing (Indonesia), Java tea (English), The' de java (France), Kumis Ucing (Sudanese), Remuk Jung (Javanese), Balbas Pusa (Filipina), Kapin Prey (Cambodia), Hnwad Meew (Laos) Yaa Nuat Maeo (Thailand) dan R[aa]u M[ef]o (Vietnam) (Anon, 2001).

### 2.1.2 Morfologi tumbuhan

Pokok Misai Kucing merupakan sejenis pokok herba renek yang berasal daripada kawasan tropika Asia Timur. Pokok ini boleh bertumbuh sehingga mencapai 1.5 meter. Ia dikenali sebagai Misai Kucing kerana mempunyai stamen yang panjang dan jarang (Anon, 1998). Pokok Misai Kucing ini mempunyai daun-daun yang disusun dalam pasangan yang bertentangan. Daunnya bewarna hijau, berbentuk taji meruncing ke hujung dan bergerigi di tepi. Ia mempunyai tangkai daun yang pendek iaitu lebih kurang 0.3 cm panjangnya dan warna ungu kemerahan. Batangnya pula berbentuk segi empat dan berwarna kemerahan. Batang pokok Misai Kucing ini adalah tegak dan terdapat banyak cabang. Bunganya pula berwarna putih atau biru pucat, panjang dan berbentuk seperti jarum dengan filamen yang panjang terkeluar. Bentuk filamen yang sebegini menyebabkan bunga tersebut kelihatan seperti misai kucing (Schutt & Zwaving, 1993). (Rajah 2.1).



Rajah 2.1: *Orthosiphon stamineus* ( Misai Kucing)

### 2.1.3 Komposisi Kimia

Berdasarkan kajian yang telah dijalankan, kebanyakan sebatian kimia yang wujud dalam Misai Kucing adalah terdiri daripada komponen-komponen yang mempunyai fungsi-fungsi tersendiri dan menunjukkan ciri-ciri aktif. Antara sebatian penting yang hadir dalam Misai Kucing ini adalah  $\alpha$ - dan  $\beta$ - karotena,  $\beta$ -zeakarotena, kriptoxanthin dan neo- $\beta$ - karotena oksida (Khamsah *et al.*, 2000); flavonoid, glikosida, minyak-minyak pati, ester-ester diterpena seperti orthosifol A dan B dan neoorthosifol A dan B, mineral-mineral dan banyak lagi (Jaganath & Teck, 2000).

Menurut Tezuka *et al.* (2000), herba ini mengandungi beberapa komponen kimia aktif seperti terpenoid (diterpena dan triterpena), polifenol (lipofilik flavonoid dan asid fenolik) dan sterol. Walaubagaimanapun komponen terpenting dalam daun Misai Kucing ialah kumpulan polifenol yang terdiri daripada tiga kumpulan utama polimetoksiflavon iaitu Sinensetin (SEN), Eupatorin (EUP), 3' – hidroksi- 5, 6, 7, 4'- tetrametoksiflavon (TMF) serta terbitan asid kafeik seperti asid rosmarinik (asid fenolik utama), asid kikorik, asid kafeik dan sebagainya (Olah *et al.*, 2003). Terdapat dua puluh komponen fenolik telah dikenalpasti dan dikuantifikasikan menggunakan Kromatografi Cecair Berprestasi Tinggi (HPLC) termasuklah sembilan lipofilik flavon, dua flavonol glikosida dan sembilan terbitan asid kafeik seperti asid rosmarinik dan 2,3- asid dikaffeoil tartarik (Sumaryono *et al.*, 1991). Pietta *et al.* (1998) juga melaporkan kehadiran polimetoksiflavon, SEN, tetrametilscutellarein dan TMF dalam daun Misai Kucing dengan menggunakan analisis HPLC.

Menurut Anon (2001) dan Sumaryono *et al.*, (1991), Misai Kucing mengandungi 12% garam mineral, asid rosmarinik (0.1-0.5%), asid kafeik dan terbitan kafeoil tartarat, dikafeoil tartarat, inositol, fitosterol seperti  $\beta$ -sitosterol serta kira-kira 0.7% minyak pati.

Manakala sebatian minyak meruap yang hadir dalam Misai Kucing adalah  $\beta$ -kariofilena,  $\alpha$ -humulena dan kariofilena oksida (Ahmad *et al.*, 2000). Menurut kajian yang dilakukan oleh Hossain *et al.* (2008), sebatian meruap yang dikaji mengandungi campuran kompleks monoterpena oksigenat dan seskuiterpena hidrokarbon. Komponen utama yang dikesan dalam daun dan batang Misai Kucing adalah seperti  $\beta$ -kariofilena,  $\alpha$ -humulena,  $\beta$ -elemena, 1-octen-3-ol,  $\beta$ -bourbonena,  $\beta$ -pinena,  $\beta$ -kampena, limonena dan kariofilena oksida. Manakala komponen meruap lain yang turut dikesan hadir dalam peratus yang kecil adalah  $\alpha$ -Pinena, 1,8-cineol, borneol, linalool, kamfor, eugenol, *p*-simena, karvon, bornil asetat dan  $\delta$ - kadinena.

Misai kucing mengandungi komposisi flavon lipofilik sebanyak 0.2% (Anon, 2001). Flavonoid merupakan sejenis antioksidan yang sangat berkesan. Kesan perlindungan flavonoid membolehkannya beroperasi memerangkap radikal bebas seperti radikal hidroksil (Shimoi *et al.*,1996). Ia juga merupakan komponen yang boleh mengurangkan risiko menghadapi kanser (Marchand, 2002). Menurut Malterud *et al.* (1989), flavonoid yang dipencil daripada Misai Kucing adalah EUP, SEN, 5- hidroksi-6,7, 3',4'- Tetrametoksiflavon, Salvigenin, Kirsitimaritin, 5,6,7,4' Tetrametoksiflavon, TMF, Pillion dan Rhamzonin. Seterusnya 5- hidroksi -7,3',4'- Tetrametoksiflavon dan 6-hidroksi-5,7,4'-trimetoksiflavon telah dipencil (Tezuka *et al.*, 2000). Selain daripada flavon, flavonol glikosida iaitu 5,7,4'- trihidroksi-3-O-B- flavonol glikosida dan 5,7,4'- trihidroksi-3-O-B-flavonol glikosida juga berjaya dipencil (Sumaryono *et al.*,1991).

Sejak kebelakangan ini, terdapat pelbagai diterpen berjaya dipencilkan daripada Misai Kucing. Daripada kajian yang dilakukan oleh Tezuka *et al.* (2000), 5 diterpena jenis isopimiran iaitu Orthosifol F-J, 2 diterpena iaitu Staminol A dan Staminol serta 3 diterpena jenis Staminan iaitu Staminolakton A, Staminolakton B dan Norstaminol A

telah berjaya dikenalpasti. Triterpena ialah Asid Oleanik, Asid Ursolik, Asid Betulinik, Sisterol, Amyrin, Vomifoliol, Aurantiamida asetat dan juga dipencil oleh kumpulan penyelidik yang sama.

Diterpena-diterpena seperti Orthosifon A (Masuda *et al.*, 2000), Orthosifol E, Orthosifon L-N, Orthosifol P, Orthosifol R-T, Norstaminol B, Norstaminol C, Norstaminolakton A, Norstaminon A (Awale *et al.*, 2002a) dan Sekoorthosifol A-C (Awale *et al.*, 2002b) telah dipencilkan daripada Misai Kucing. Norstaminolakton A merupakan suatu konstituen yang mengandungi atom nitrogen. Ohashi *et al.*, (2000) juga berjaya memencilkan Neoorthosifol A dan Neoorthosifol B serta 3 benzokrom iaitu Metilripariokrom A, Asetovanillokrom dan Orthokrom A .

Sebenarnya, konstituen-konstituen aktif yang hadir di dalam daun Misai Kucing adalah tidak tetap sepanjang tahun. Menurut Khamsah *et al.* (2000), keadaan ini berlaku disebabkan oleh faktor-faktor penuaian seperti musim daun dipetik, umur pokok dan juga masa daun dipetik. Faktor-faktor ini boleh menyebabkan variasi pada komposisi metabolit sekunder yang hadir dalam daun Misai Kucing (Harbone, 1973). Jadi setiap kali pengekstrakan dilakukan, sebatian-sebatian yang berlainan mungkin wujud dalam ekstrak tersebut.

#### **2.1.4 Kegunaan tumbuhan**

Berbanding bahagian yang lain (akar, batang dan bunga), daun merupakan bahagian yang paling banyak mempunyai konstituen merawat penyakit (Chung *et al.*, 1999 & Venkatamuru *et al.*, 1983). Disebabkan fungsi berikut daun misai kucing telah digunakan secara meluas di Asia Tenggara sebagai ubat tradisional. Sebagai contoh, di Indonesia Misai Kucing diguna untuk merawati reumatisme, diabetes, hipertensi,

tonsillitis, epilepsi, kitaran haid yang tidak normal, gonorea, sifilis dan batu karang di ginjal atau di hempedu (Burma Medical Research Institute Report, 1967). Komponen-komponen seperti Metilripariokrom A, Neoorthosifol A dan Neoorthosifol B yang dipencil daripada *Orthosiphon aristatus* dari Indonesia telah menunjukkan aktiviti dalam menghalang pengecutan pada otot licin aorta rongga dada yang distimulasi oleh ion K<sup>+</sup>. Ini merupakan aktiviti yang berkait rapat dengan aktiviti antihipertensi (Ohashi *et al.* 2000; Matsubara *et al.*, 1999).

Di Vietnam pula Misai Kucing diguna untuk merawat pertumbuhan batu karang di saluran air kencing, edema, selesema, hepatitis dan penyakit kuning. Konstituen yang diterbit daripada misai kucing yang ditanam di Okinawa, Jepun iaitu Norstaminolakton A dapat menunjukkan aktiviti dalam menghalang pertumbuhan sel karsinoma kolon yang bermetastatik hati yang tinggi (Awale *et al.*, 2002a). Manakala di Malaysia pula berdasarkan kajian Hegnauer (1966) dan Wangner (1982), daun misai kucing ini dijadikan minuman teh untuk meningkatkan kesihatan dan untuk rawatan penyakit batu karang, jangkitan pundi kencing, gout, kencing manis dan tekanan darah tinggi.

Menurut Anon (2002), kajian yang dilakukan oleh Dr. Sahabudin Raja Mohamed, pakar urologi Hospital Kuala Lumpur, ekstrak Misai Kucing merencat pengumpulan hablur kalsium oksalat dengan mengurangkan saiz hablur dan mengubah saiz permukaannya. Flavonoid bertindak sebagai bahan kimia perencat untuk menghalang pertumbuhan dan pengumpulan garam hablur. Misai kucing juga digunakan untuk aktiviti diuretiknya. Ia dapat mempertingkatkan isipadu urin dan kuantiti ion K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> serta Cl<sup>-</sup> yang hadir dalam urin (Matsubara *et al.*, 1999; Beaux *et al.*, 1998; Englert & Harnischfeger, 1992; Doan *et al.*, 1992). Kesan ini dapat merendahkan risiko pertumbuhan batu karang di saluran air kencing dan ginjal. Kesan diuretik ini

disebabkan oleh kandungan kalium yang tinggi dalam daun dan kehadiran inositol, sinensetin dan 3'-hiroksi-5,6,7,4'-tetrametoksiflavon yang merencat aktiviti diuretik dalam tikus selepas suntikan ekstrak Misai Kucing sebanyak 10mg/kg berat badan (Anon, 2002).

Ekstrak Misai Kucing dapat menurunkan paras asid urik dalam badan yang menjadi punca utama penyakit gout dengan menghalang penghasilannya (Anon, 2002). Ekstrak Misai Kucing mengandungi paras antioksidan yang tinggi yang dapat merencat radang sendi yang berhubungan dengan gout dan dapat mengurangkan kesakitan di kawasan sendi yang terbabat. Dari segi fakta, ekstrak ini dapat menunjukkan keupayaan diuretik menyingkirkan penambahan asid urik dalam badan dan menghalang pengumpulannya pada sendi yang boleh menyebabkan kesakitan kepada pesakit gout (Anon 2002).

Ekstrak Misai Kucing juga mempunyai keupayaan untuk merendahkan tekanan darah bagi pesakit tekanan darah tinggi. Berdasarkan kajian yang dijalankan oleh Ohashi *et al.* (2000), ekstrak ini boleh menurunkan tekanan darah tikus dan sekaligus juga berkesan kepada manusia. Keputusan yang diperolehi daripada kajian Akowuah *et al.* (2005), mendapati ekstrak Misai Kucing merupakan perencat radikal bebas dan antioksidan pemula yang bertindak dengan radikal-radikal bebas. Keupayaan antioksidan yang terdapat dalam ekstrak Misai Kucing merupakan salah satu faktor yang dapat menurunkan tekanan darah pesakit. Melalui kajian yang dijalankan oleh Lopes *et al.* (2002), kandungan antioksidan yang tinggi dalam diet dapat merendahkan tekanan darah tinggi. Kajian tersebut mendapati berlaku penurunan tekanan darah dengan peningkatan kapasiti total antioksidan dalam darah pesakit darah tinggi. Kajian daripada Beaux *et al.* (1998), juga mendapati pembuangan garam natrium melalui air kencing

meningkat apabila tikus diberi suntikan ekstrak *Orthosiphon stamineus* dan *Sambucus nigra*. Peningkatan pembuangan natrium melalui air kencing ini juga dapat merendahkan tekanan darah pesakit darah tinggi.

Berdasarkan kajian yang dilakukan oleh Mariam *et al.* (1996), Misai Kucing juga menunjukkan aktiviti dalam merendahkan paras glukosa darah. Kajian tersebut mendapati suntikan ekstrak Misai Kucing sebanyak 1.0g/kg berat badan yang dilakukan ke atas tikus menunjukkan kesan aktiviti hipoglisemik. Ini menunjukkan herba ini berpotensi menurunkan paras glukosa dalam darah bagi pesakit kencing manis.

Kerosakan gigi yang menyebabkan kemusnahan lapisan enamel gigi adalah diakibatkan oleh tindakan bakteria. Didapati bahawa kumpulan *Streptococcus mutans* merupakan bakteria yang mengakibatkan kemusnahan enamel dengan perembesan asid organik seperti asid laktik. *Orthosiphon aritatus* dapat menghalang pertumbuhan bakteria dari kumpulan *Streptococcus mutans* di lapisan enamel (Chen *et al.*, 1989).

Selain daripada kesan farmakologi, Misai Kucing dipercayai berguna dalam bidang makanan. Menurut Khamsah *et al.* (2000), kewujudan sebatian antioksidan seperti  $\alpha$  dan  $\beta$ - karotena, kriptoxantin,  $\beta$ -zeakarotena serta neo- $\beta$ -karotena oksida pada Misai Kucing mungkin membolehkannya berfungsi sebagai antioksidan semulajadi untuk menghalang proses pengoksidaan lipid dalam makanan.

Berdasarkan kajian daripada Barnes & Philipson., (2002), tiada laporan yang melaporkan Misai Kucing memberi kesan sampingan atau ketoksikan kepada pengguna. Laporan mengenai keselamatan Misai Kucing ini juga disahkan melalui kajian toksikologi Dr. Sahabudin iaitu suntikan sebanyak lima gram ekstrak ke atas tikus tidak menunjukkan sebarang kesan sampingan yang merbahaya (Anon, 2002). Ini



membuktikan herba Misai Kucing ini selamat digunakan terutama dalam bidang makanan sebagai salah satu makanan kesihatan.

## **2.2 Teh**

### **2.2.1 Pengelasan teh**

Teh merupakan salah satu minuman yang digemari oleh orang ramai. Hal ini kerana teh mempunyai rasa dan aroma yang unik. Dipercayai bahawa negara China merupakan negara yang pertama yang mengemukakan minuman teh (Khokar & Magnusdottir, 2002). Secara tradisi, teh diminum untuk meningkatkan pengedaran darah, menyingkirkan toksin dan meningkatkan rintangan terhadap penyakit (Balentine *et al.*, 1997).

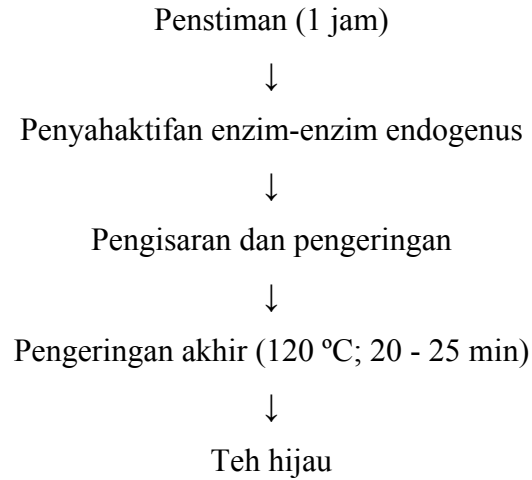
Teh adalah minuman yang disediakan dengan merendamkan daun-daun tumbuhan iaitu *Camellia sinensis* dalam air panas untuk beberapa minit. Teh boleh digolong kepada 3 kategori yang utama iaitu teh hijau (tanpa fermentasi), teh hitam (fermentasi), teh oolong (separa-fermentasi) (Reeves *et al.*, 1987; Tuminah, 2004; Karori *et al.*, 2007).

### **2.2.2 Jenis pemprosesan teh**

#### **2.2.2.1 Teh hijau**

Teh hijau merupakan teh yang tidak terfermen (Luczaj & Skrzydlewska, 2005). Pemanasan daun teh dilakukan dengan segera selepas pemetikan daun sama ada dengan menggunakan kaedah pemanggangan, penstimasi atau pendidihan (Zeiss & Braber, 2001). Ini adalah bertujuan untuk menyahaktifkan enzim-enzim di dalam daun terutamanya enzim polifenol oksidase dan menghalang berlakunya perubahan kimia

dengan kehadiran enzim (Wilson & Clifford, 1992). Maka warna hijau teh hijau dan kandungan kimia daun teh segar dapat dikekalkan (Zeiss & Braber, 2001). Rajah 2.2 menunjukkan pemrosesan teh hijau secara ringkas (Karori *et al.*, 2007).



Rajah 2.2 Pemrosesan teh hijau

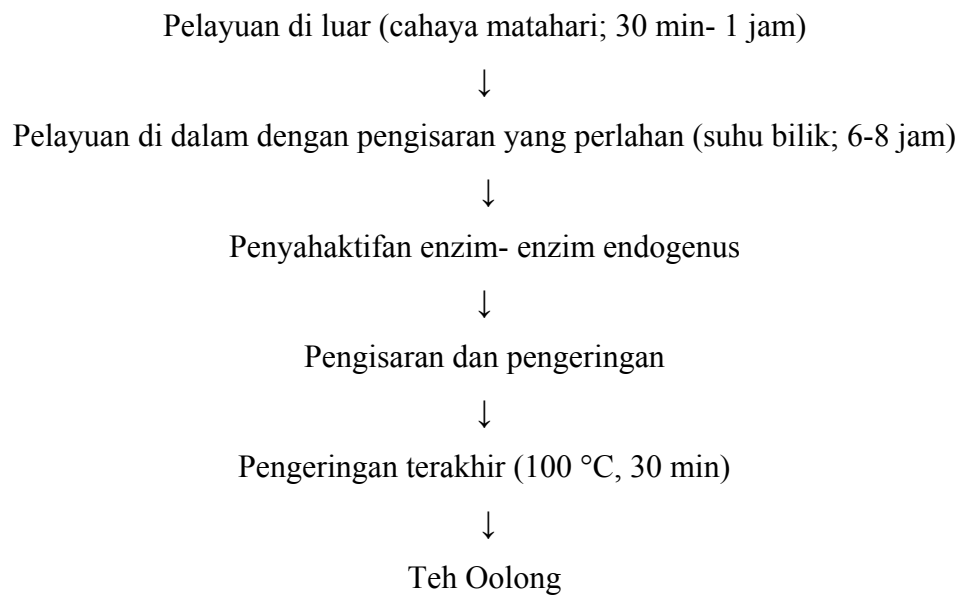
Rajah 2.3 menunjukkan contoh gambar teh hijau yang berada di pasaran.



Rajah 2.3 Teh hijau (Sumber: Anon, 2005)

### 2.2.2.2 Teh Oolong

Teh Oolong merupakan produk teh yang melalui proses separa- fermentasi (Harold & Graham, 1992; Luczaj & Skrzydlewska, 2005). Ia mempunyai sifat di antara teh hijau dan teh hitam (Pintauro, 1977). Teh Oolong mempunyai warna di antara teh hijau dan teh hitam dan komposisi yang hampir sama dengan kedua-dua teh (Hashimoto *et al.*, 1989). Rajah 2.4 menunjukkan pemprosesan teh oolong secara ringkas (Karori *et al.*, 2007). Manakala Rajah 2.5 pula menunjukkan contoh gambar teh Oolong yang berada di pasaran.



Rajah 2.4 Pemprosesan teh Oolong



Rajah 2.5: Teh Oolong (Sumber: Anon, 2005)

### **2.2.2.3 Teh hitam**

Dalam pemrosesan teh hitam, terdapat 4 peringkat penting yang perlu dilalui iaitu pelayuan, pengisaran, fermentasi dan pengeringan bagi memastikan kualiti akhir teh yang terhasil terjamin.

#### **i. Pelayuan**

Semasa pelayuan, udara perlu berkitar secara bebas dalam daun. Suhu pelayuan perlulah dikekalkan pada suhu bilik dan elakkan pemanasan yang berlebihan. Masa pelayuan yang biasa digunakan oleh kilang ialah 12-16 jam, dan ada juga kilang yang melakukan pelayuan selama 24 jam. Walaubagaimanapun, kajian mendapati pelayuan yang tidak melebihi 14 jam dapat menghasilkan teh yang berkualiti tinggi dan akan berlaku penurunan kualiti apabila masa ditingkatkan hingga 20 jam (Wilson & Clifford, 1992).

Menurut Tomlins & Mashingaidze (1997), semasa proses pelayuan, daun mula kehilangan lembapan dari 75-80% kepada 55-65% dan ini akan meningkatkan ketelapan membran sel. Keadaan ini memudahkan proses pengisaran dan fermentasi dan ia dikenali sebagai pelayuan fizikal. Pada masa yang sama perubahan biokimia berlaku

(pelayuan kimia) yang berperanan dalam peningkatan kualiti akhir produk. Antara perubahan biokimia penting yang berlaku semasa pelayuan adalah peningkatan aktiviti polifenol oksidase, berlaku degradasi protein kepada asid amino dengan tindakan peptidase, meningkatkan kandungan kafein dan kandungan fosfat tak organik, klorofil didegradasi oleh klorofilase kepada klorofilid, berlaku penurunan kepekatan gula dan berlaku perkembangan perisa yang meruap (Bhatia, 1964; Wickremasinghe & Peresa, 1966; Saijo & Takeo, 1973; Tomlins & Mashingaidze, 1997). Secara keseluruhannya proses pelayuan akan memberi kesan kepada nilai produk akhir (Tomlins & Mashingaidze, 1997).

## **ii. Pengisaran**

Pengisaran bertujuan untuk menjadikan saiz daun menjadi lebih kecil dan untuk memusnahkan struktur membran sel supaya dapat membebaskan komponen-komponen daun dan enzim dan terdedah kepada udara. Proses ini juga dapat meningkatkan paras aktiviti polifenol oksidase/peroksidase, penghasilan komponen perisa dan degradasi klorofil (Wilson & Clifford, 1992).

## **iii. Fermentasi**

Fermentasi bermula apabila jus dan enzim yang terbebas daripada daun selepas pengisaran terdedah kepada oksigen di udara. Fermentasi melibatkan oksidasi polifenol kepada teaflavin dan tearubigin dengan kehadiran enzim polifenoloksidase dan asid lemak taktepu dan asid amino kepada komponen perisa meruap. Perubahan warna daun akan berlaku dari hijau ke coklat. Suhu dan masa fermentasi adalah penting dan perlulah dikawal bagi memastikan kualiti akhir teh terjamin.

Daripada kajian Cloughley (1980), suhu yang sesuai digunakan adalah antara 25-30°C dan pada suhu yang rendah antara 15-25°C akan menyebabkan peningkatan perisa

ke atas teh. Masa fermentasi yang digunakan pula adalah di antara 45 min hingga 3 jam (Ashok, 2005). Kualiti teh juga akan menurun pada fermentasi yang melibatkan suhu tinggi (Cloughley, 1980).

#### **iv. Pengerinan**

Proses fermentasi akan berakhir dengan pengerinan pada suhu tinggi antara 90-95°C selama 30 minit. Pengerinan akan menghentikan aktiviti enzim dan menurunkan kandungan lembapan sehingga 3 % supaya dapat meningkatkan kualiti teh semasa penstoran (Anon, 2004). Manakala menurut Ashok (2005), masa yang sesuai untuk menurunkan kandungan lembapan hingga 2-3% adalah 90-100 °C selama 20-25 minit.

Menurut kajian yang dilakukan oleh Tea Research Institute, Tokcklai, pada peringkat terakhir pengerinan, beberapa perubahan kimia berlaku ke atas teh hitam iaitu dengan penyahaktifan enzim-enzim seperti polifenol oksidase (PPO) dan peroksidase (PO) semasa pengerinan akan menyebabkan kesemua tindakbalas biokimia terhenti. Klorofil juga didegradasikan kepada feofitin dan feoforbid. Dengan peningkatan suhu, polifenol membentuk kompleks kimia dengan mengikat komponen protein menyebabkan pengurangan astringensi. Selain itu, tindak balas antara karbohidrat dan asid amino yang berlaku semasa pengerinan juga akan menyebabkan pembentukan komponen perisa (Anon, 2003).

Daripada kajian Vaclavik (1998), di dapati teh yang terfermen mempunyai kandungan teofilin yang lebih tinggi dan kandungan tannin dan kafein yang lebih rendah. Tannin merupakan kumpulan polifenol yang memberikan warna dan rasa kelat kepada ekstrak teh. Warna teh yang difermentasikan juga disumbang oleh faktor keadaan pemprosesan seperti kaedah memetik daun, cara mengendalikan daun yang dipetik dan suhu keadaan pelayuan dan fermentasi (Owuor & Obanda, 1998),

kelembapan relatif dan masa fermentasi (Obanda *et al.*, 2001). Rajah 2.6 menunjukkan contoh gambar teh hitam yang berada di pasaran.



Rajah 2.6: Teh hitam ( sumber: Anon, 2005)

### **2.2.3 Teh herba**

Beratus-ratus jenis pokok herba telah digunakan untuk menyediakan minuman. Minuman jenis ini dikenali sebagai teh herba. Teh herba ini bukan dihasilkan daripada daripada daun teh *Camellia sinensis*. Ia lebih dikenali sebagai rendaman herba atau ‘tisane’. Kebanyakan herba ini dipercayai baik untuk kesihatan. Teh ini boleh dihasilkan daripada rendaman bunga, daun, biji atau akar secara segar atau kering di dalam air panas untuk beberapa minit (Anon, 2006a; Anon 2007).

Misai kucing merupakan salah satu teh herba yang mempunyai nilai perubatan seperti yang dibincangkan di bahagian kegunaan (2.1.4). Menurut Noor Haliza (2002), Misai Kucing mengandungi kuantiti flavonoid yang agak tinggi dan ia sangat larut dalam air. Pengambilan makanan yang mengandungi flavonoid dapat mengurangkan kadar kematian bagi orang yang menghidap penyakit koronari jantung (Hertog *et al.*, 1993). Maka dalam kajian ini, daun Misai Kucing digunakan untuk menyediakan teh herba yang berkualiti dengan menggunakan kaedah pemrosesan teh hitam pada suhu

dan masa fermentasi yang berbeza. Rajah 2.7 menunjukkan beberapa contoh teh Misai Kucing yang berada di pasaran.



a) teh yang dikeringkan dengan udara kering (daun muda)



b) teh yang dikeringkan dengan pengering oven (campuran daun muda dan matang)



c) teh campuran daun dan batang misai kucing

Rajah 2.7: Contoh teh Misai Kucing ( Sumber: Anon, 2008)

Contoh teh herba yang lain adalah seperti teh *anise* yang dihasilkan daripada biji dan daun, teh *chamomile* yang digunakan sebagai penenang, teh *halia*, teh bunga kekwa dan bunga raya yang dihasilkan daripada bunga dan *honeybush*. Rajah 2.8 menunjukkan beberapa contoh gambar teh herba lain yang berada di pasaran.





a) Teh *chamomile*



b) Teh campuran halia dan pudina

Rajah 2.8: Contoh teh herba (Sumber: Anon, 2007)

### 2.3 Komposisi kimia dalam teh *Camellia sinensis*

Komposisi kimia dalam daun teh *Camellia sinensis* adalah berbeza berdasarkan faktor iklim, faktor klimatik (seperti suhu bilik, masa pendedahan terhadap cahaya matahari dan musim hujan) dan faktor hortikultur (contohnya cara penuaian, penggunaan baja dan cara pemetikan daun). Jadual 2.1 menunjukkan komposisi kimia yang hadir dalam daun teh (Ullah, 1991; Balentine *et al.*, 1998). Jadual 2.2 pula menunjukkan komposisi kimia yang hadir dalam teh yang diproses menjadi di teh hitam hasil daripada kajian *Tocklai Tea Reasearch Association* dan *UPASI Tea Research Foundation* (Anon, 2003; Anon, 2006).

Jadual 2.1: Komposisi kimia daun teh

| Komposisi kimia | Berat kering g /100 g |
|-----------------|-----------------------|
| Polifenol       | 25- 30                |
| Kafein          | 3-4                   |
| Asid amino      | 4                     |
| Karbohidrat     | 4                     |
| Asid organik    | 0.5                   |
| Kanji           | 1-2                   |
| Pektin          | 12                    |
| Protein         | 15                    |
| Abu             | 5                     |
| Selulosa        | 7                     |
| Lignin          | 6                     |
| Lemak           | 3                     |
| Pigmen          | 0.5                   |
| Komponen meruap | 0.01-0.02             |

Jadual 2.2: Komposisi kimia teh hitam

| Komposisi kimia                 | Berat kering |
|---------------------------------|--------------|
| Katekin, %                      | 3            |
| Teaflavin, %                    | 0.59- 3      |
| Tearubigin, %                   | 6.5-18       |
| Flavonol, %                     | 6            |
| Asid fenolik dan terbitannya, % | 10           |
| Asid amino, %                   | 13           |
| Metilxanthin, %                 | 8            |
| Karbohidrat, %                  | 10           |
| Protein, %                      | 0.8          |
| Mineral, %                      | 8            |
| Komponen meruap, %              | 0.05         |
| Total lemak, %                  | 3.11- 3.68   |
| Karotenoid, µg/g                | 176- 215     |
| Total gentian, %                | 18.93- 19.35 |
| Gentian kasar, %                | 11.12- 17.00 |
| Klorofil a, mg/ g               | 1.38- 0.48   |
| Klorofil b, mg/ g               | 0.77- 0.58   |
| Total abu, %                    | 4- 8         |
| Plumbum , mg / kg               | 32           |
| Kuprum, mg / kg                 | 32           |