



**AGROPROSS**  
National Conference  
Proceedings of Agriculture

**Prosiding**

**Seminar dan Bimbingan Teknis Pertanian Politeknik Negeri Jember 2025**  
*SMART AGRICULTURE : Akselerasi Program Prioritas Nasional Melalui Optimalisasi Produksi Pertanian*  
4-5 Juni 2025

**Publisher:**

**Agropross, National Conference Proceedings of Agriculture**  
E-ISSN: 2964-0172  
DOI: 10.25047/agropross.2025.835

## **Analisis Kadar Prolin pada Daun Teh Pascapanen dalam Kondisi Hipoksia**

### *Analysis of Proline Levels in Post-Harvest Tea Leaves Under Hypoxic Conditions*

*Author(s):* Limartaida Siahaan, Dora Palupi

*Politeknik Manufaktur Negeri Bangka Belitung*

\* Corresponding author: [limartaida@polman-babel.ac.id](mailto:limartaida@polman-babel.ac.id)

#### **ABSTRAK**

Teh GABA (Gamma-aminobutyric acid) adalah jenis teh yang diproses secara khusus untuk meningkatkan kandungan GABA, senyawa yang dikenal memiliki efek menenangkan, serta berperan dalam pencegahan gangguan neurologis, diabetes, dan kanker. Salah satu cara meningkatkan GABA adalah melalui perlakuan hipoksia, seperti perendaman daun teh pascapanen. Akumulasi GABA dalam tanaman sering dikaitkan dengan peningkatan prolin, terutama saat tanaman mengalami stres oksidatif. Namun, hubungan ini belum banyak diteliti secara spesifik pada daun teh setelah dipetik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar prolin pada daun teh yang direndam dalam kondisi rendah oksigen, guna mengevaluasi apakah akumulasi GABA memang sejalan dengan peningkatan prolin. Daun teh (satu pucuk tiga daun) dibagi dalam empat kelompok perlakuan: kontrol (disimpan pada suhu 20°C), perendaman selama 8 jam, 16 jam, dan 24 jam. Analisis prolin dilakukan untuk setiap perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa kadar prolin meningkat sesaat setelah pemetikan, namun menurun setelah perlakuan perendaman. Temuan ini menunjukkan bahwa akumulasi prolin tidak meningkat dalam kondisi hipoksia, berbeda dengan kecenderungan GABA yang justru meningkat menurut berbagai studi. Dengan demikian, prolin tidak selalu menjadi indikator langsung dalam peningkatan GABA pada daun teh pascapanen

#### **Kata Kunci:**

Daun teh;  
Hipoksia;  
Teh;  
Prolin

#### **Keywords:**

Hypoxia;  
Tea;  
Tea leaves;  
Proline

#### **ABSTRACT**

GABA tea (Gamma-aminobutyric acid tea) is a type of tea specially processed to increase its GABA content, a compound known for its calming effects and potential in preventing neurological disorders, diabetes, and cancer. One method to enhance GABA levels is through hypoxic treatment, such as post-harvest leaf immersion. GABA accumulation in plants has often been linked to increased proline levels, especially under oxidative stress conditions. However, this relationship has not been widely studied in post-harvest tea leaves. This study aims to analyze proline accumulation in tea leaves subjected to low-oxygen conditions, to assess whether GABA enhancement is directly correlated with proline levels. Freshly harvested tea shoots (one bud and three leaves) were divided into four treatment groups: a control group stored at 20°C, and groups immersed in water for 8, 16, and 24 hours. Proline content was measured for each treatment. The results showed that proline levels increased immediately after harvesting but decreased with longer immersion times. These findings suggest that hypoxic conditions induced by immersion do not promote proline accumulation, in contrast to the well-documented increase in GABA under similar conditions. Therefore, proline may not serve as a direct indicator of GABA accumulation in post-harvest tea leaves..

## PENDAHULUAN

Teh dari tanaman (*Camellia sinensis* L) merupakan salah satu minuman populer di seluruh dunia. Area produksi teh sudah tersebar di seluruh dunia dan setidaknya terdapat satu negara dari setiap benua yang dapat memproduksi teh (FAO, 2020). Teh dapat dikelompokkan menjadi teh hitam (fermentasi), hijau (non-fermentasi), dan oolong (semi-fermentasi), dimana pengelompokan ini adalah berdasarkan proses pembuatannya. Teh yang berbeda memiliki rasa dan manfaat yang berbeda pula bagi kesehatan manusia. Secara umum, teh dapat membantu mencegah beberapa jenis kanker, penyakit kardiovaskular, diabetes, radang sendi, dll. (Khan & Mukhtar, 2013). Kualitas daun teh yang dipetik saat proses pemanenan hingga proses pengolahan perlu dijaga demi mendapatkan kualitas daun teh yang baik untuk dinikmati. Namun pada saat pemanenan teh, banyak faktor yang dapat mempengaruhi penumpukan senyawa kimia pada daun teh akibat kondisi stres, yang dapat mempengaruhi kualitas produk akhir teh.

Salah satu teh yang sedang populer adalah teh GABA. Gamma-aminobutyric acid (GABA) adalah asam amino non-protein dan merupakan penghambat neurotransmitter pada sistem saraf pusat. Menurut Wong dkk. (2003), perubahan konsentrasi GABA di otak manusia dapat menyebabkan banyak gangguan neurologis. Manfaat GABA ini mengawali aktifnya produksi makanan serta minuman yang diperkaya dengan kandungan GABA, misalnya teh GABA. Cheng dan Tsai (2009) membuktikan bahwa GABA dapat menyembuhkan pasien insomnia. Dalam proses produksinya, kandungan teh pada GABA biasanya ditingkatkan dengan menempatkan daun-daun teh pada kondisi rendah oksigen (hipoksia) atau sama tanpa oksigen (anoksia). Kandungan GABA pada daun teh dapat meningkat delapan kali lipat (Tsushida et al., 1987) bahkan

dapat ditingkatkan secara signifikan dan mencapai lebih dari 1,5 mg/g (Wu et al., 2014) dalam saat dipaparkan pada kondisi anoksia. Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan akumulasi GABA pada tanaman teh adalah merendamnya dalam air. Perendaman daun teh di air terbukti dapat mengakumulasi GABA, dimana akumulasi tertinggi diperoleh pada perendaman 11 jam (Liao et al., 2017).

Pada dasarnya, biosintesis GABA pada tanaman berkaitan erat dengan siklus TCA (tricarboxylic acid) atau disebut juga sebagai siklus Krebs, sering disebut sebagai GABA shunt. Proses ini dimulai dari proses dekarboksilasi ireversibel antara glutamat dan GABA di sitosol. Kemudian GABA akan ditransfer ke mitokondria dan GABA transaminase (GABA-T/POP2). Selanjutnya, proses oksidasi dari SSA menjadi suksinat oleh suksinat semi-aldehid dehidrogenase (SSADH) yang bergantung pada NAD<sup>+</sup> memasuki siklus TCA. Setelah proses ini dapat dikatakan kerangka karbon glutamat telah memasuki siklus TCA melalui daur ulang GABA ini (Li et al., 2021). Pada shunt GABA, GABA tidak hanya dimetabolisme dengan melewati siklus TCA tetapi juga dapat disintesis secara tidak langsung dari prolin dan poliamina (Adamipour et al., 2025). Jalur poliamina merupakan salah satu jalur GABA alternatif; Dengan cara ini, metabolisme dimulai dari konversi putresin yang dipicu oleh diamina oksidase (DAO) dan spermidine yang dipicu oleh poliamin oksidase (PAO) menjadi zat antara  $\gamma$ -aminobutyraldehyde, yang akhirnya diubah menjadi GABA oleh 4-aminobutyraldehyde dehidrogenase (Rashmi et al., 2018). Sementara hubungan prolin dan GABA sering dikaitkan dengan timbulnya stres oksidatif pada kondisi stres abiotik (Corpas et al., 2013). Karena dalam keadaan tersebut, pelepasan H<sub>2</sub>O oleh prolin akan menghasilkan prekursor

GABA 1-pirolin untuk mengakumulasi GABA (Signorelli et al., 2015).

Beberapa penelitian terdahulu banyak membahas bahwa respons prolin dan GABA pada tanaman adalah positif, yang artinya akumulasi prolin berbanding lurus dengan akumulasi GABA (Verluez dan Sharp, 1999; Cao et al., 2013). Namun masih sedikit yang membahas mengenai hubungan antara prolin dan GABA pada bagian tanaman yang sudah dipetik, seperti daun teh pasca pemanenan yang akan diolah menjadi daun teh siap seduh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui akumulasi prolin pada kondisi rendah oksigen yang dimana kondisi tersebut dipercaya juga meningkatkan kadar GABA pada daun teh, hal ini adalah penting karena proline juga merupakan senyawa yang dapat menginisiasi pembentukan GABA yang penting dalam pembuatan teh GABA dengan segudang manfaatnya untuk kesehatan.

## BAHAN DAN METODE

Persiapan sampel dilakukan dengan pemetaan daun teh dari kebun percobaan National Chung Hsing University, Taiwan pada tanggal 14 Juli 2022, menggunakan kriteria 1 pucuk dan 3 daun. Selanjutnya, daun-daun tersebut dibagi ke dalam 4 kelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan, yaitu kelompok kontrol yang langsung dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan di dalam lemari es pada suhu 20°C, kelompok perendaman selama 8 jam, kelompok perendaman selama 16 jam, serta kelompok perendaman selama 24 jam. Setelah setiap perlakuan perendaman selesai, daun teh langsung dimasukkan ke dalam lemari pendingin bersuhu 20°C, dan ekstraksi dilakukan secara bersamaan setelah perlakuan perendaman selama 24 jam selesai. Perlakuan dilakukan dengan 3 ulangan.

Proses ekstraksi dimulai dengan mengeluarkan sampel dari kulkas pada

suhu 20°C, kemudian kantong plastik yang sudah dilubangi (2 atau 3 lubang) dimasukkan ke dalam wadah aluminium yang berisi nitrogen cair. Prosedur yang digunakan untuk analisis prolin dalam penelitian ini mengikuti prosedur dari Bates et al. (1973) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1,5 ml Asam Sulfosalisilat 3% (b/v) ditambahkan ke sampel dan disentrifugasi selama 20 menit pada 25°C dan 10000 g. Untuk analisis, sebanyak 0,5 ml supernatan digunakan untuk pengujian prolin.

Sebanyak 0,25 g ninhidrin dilarutkan dalam campuran 6 ml asam asetat dan 4 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 6M. Sebanyak 0,5 ml filtrat direaksikan dengan 0,5 ml larutan asam ninhidrin dan 0,5 ml asam asetat dan didiamkan selama 1 jam pada suhu 100°C; proses reaksi dihentikan dalam penangas es untuk menghentikan reaksi. Kemudian campuran diekstraksi dengan 2 ml toluena dan dikocok kuat menggunakan pengocok vorteks selama 15-20 detik. Analisis ini menggunakan Spectramax M2 dengan panjang gelombang 520 nm untuk mengukur absorbansi prolin. Toluena digunakan sebagai blanko. Kurva standar diperoleh dengan mengekstraksi beberapa konsentrasi prolin murni.

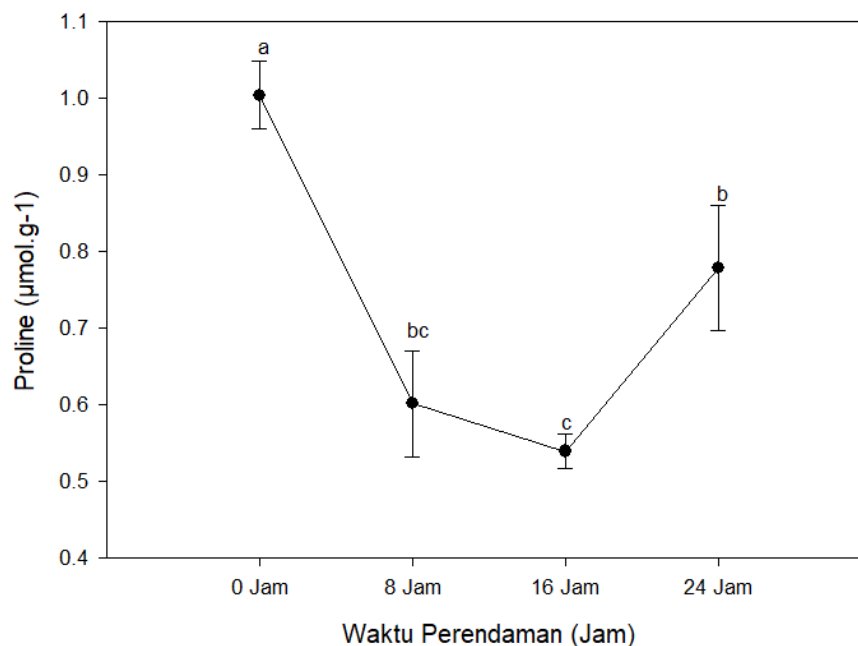
Analisis statistik dilakukan dengan perangkat lunak IBM SPSS Statistic 20.0. ANOVA satu arah digunakan untuk menganalisis perbedaan antar rata-rata, diikuti dengan analisis post hoc uji perbedaan Signifikan Terkecil (LSD). Semua analisis post hoc diuji dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $P < 0,05$ ). Analisis korelasi digunakan untuk menentukan hubungan antara kandungan air, prolin, GABA, dan konduktansi stomata. Data dari beberapa perlakuan status air, durasi, suhu, dan ketersediaan cahaya digunakan dalam analisis korelasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar. 1. Pada saat

daun teh dipetik dan tanpa dilakukan proses perendaman (waktu perendaman 0 jam) konsentrasi proline yang terakumulasi pada setiap gram sample adalah 1,004  $\mu\text{mol.g}^{-1}$ , dimana akumulasi ini merupakan konsentrasi prolin tertinggi setelah dilakukan proses perendaman. Pada perendaman 8 jam pertama, terjadi penurunan konsentrasi prolin yang tajam yaitu 0,601  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  yang dimana

penurunan akumulasi ini tidak berbeda nyata dengan proses perendaman yang lebih lama yaitu 16 dan 24 jam. Memasuki pendaman 16 jam, akumulasi prolin pada daun teh cenderung menurun yaitu dengan konsentrasi 0,539  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  yang berbeda nyata dengan perendaman 24 jam yang terakumulasi lebih tinggi yaitu 0,778  $\mu\text{mol.g}^{-1}$ .



Gambar 1. Perubahan konsentrasi prolin pada perlakuan perendaman daun teh

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diamati bahwa akumulasi proline pada perlakuan 0 jam adalah lebih tinggi sebelum dilakukan perendaman. Hal ini dapat terjadi karena adanya proses pemetikan dimana daun teh akan mengalami penurunan kadar air. Penurunan kadar air dapat menyebabkan stress pada tanaman yang akan memicu akumulasi proline (Wahono et al., 2014) karena prolin berfungsi dalam mengatur tekanan osmosis (Yoshida et al., 1997) dan melindungi enzim yang berfungsi untuk mengurangi tingkat detoksifikasi Reactive Oxygen Species (ROS) dari proses denaturasi (Pritchard et al., 2000;

Konstantinova et al., 2002). Delauney et al. (1993) menemukan bahwa jalur glutamat mendominasi sintesis prolin di bawah stres osmotik.

Penurunan akumulasi prolin pada perlakuan perendaman diduga terjadi karena adanya proses peningkatan kadar air pada daun teh yang dimana hal ini menyebabkan daun teh mendapatkan kesegarannya serta stres osmosis berkurang. Penurunan kadar proline dengan perendaman 8 jam tidak berbeda secara nyata dengan perendaman 16 dan 24 jam.

Kecenderungan akumulasi prolin melalui perendaman dengan tujuan

memberikan keadaan rendah oksigen tidak terlihat meningkatkan akumulasi prolin, berbanding terbalik dengan akumulasi GABA yang menurut banyak penelitian terdahulu akan terakumulasi lebih banyak jika diberi perlakuan sedikit bahkan tanpa oksigen (Tsushida et al., 1987; Wu et al., 2014; Liao et al., 2017). Hal ini dapat terjadi karena pembentukan GABA pada keadaan hipoksia dan anoxia adalah paling banyak sekitar 37%–47% melalui jalur poliamina (Wu et al., 2018) dan sisanya dapat melalui

## KESIMPULAN

Perlakuan perendaman daun teh yang memberikan kondisi hipoksia pada saat pasca pemanenan menurunkan akumulasi prolin pada 8, 16, dan 24 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

FAOSTAT. (n.d.).

<https://www.fao.org/faostat/en/>.

Khan, N., & Mukhtar, H. (2013). Tea and health: studies in humans. *Current pharmaceutical design*, 19(34), 6141–6147.

<https://doi.org/10.2174/1381612811319340008>.

Wong, C. G., Bottiglieri, T., & Snead, O. C., 3rd (2003). GABA, gamma-hydroxybutyric acid, and neurological disease. *Annals of neurology*, 54 Suppl 6, S3–S12. <https://doi.org/10.1002/ana.10696>.

Cheng, T. C., & Tsai, J. F. (2009). GABA tea helps sleep. *Journal of alternative and complementary medicine* (New York, N.Y.), 15(7), 697–698. <https://doi.org/10.1089/acm.2009.0023>.

Tsushida, T., & Murai, T. (1987). Conversion of Glutamic Acid to  $\gamma$ -Aminobutyric Acid in Tea Leaves under Anaerobic Conditions. *Agricultural and Biological*

GABA shunt and prolin. Akumulasi prolin pada kondisi stress juga bergantung pada keberadaan fitohormon daripada

konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  dan pH sehingga akumulasi prolin lebih lambat dari GABA dan parameter fisiologi lainnya (Casaretto et al., 2021).

*Chemistry*, 51(11), 2865–2871.

<https://doi.org/10.1080/00021369.1987.10868498>.

Wu, Q. Y., Ma, S. Z., Zhang, W. W., Yao, K. B., Chen, L., Zhao, F., & Zhuang, Y. Q. (2018). Accumulating pathways of  $\gamma$ -aminobutyric acid during anaerobic and aerobic sequential incubations in fresh tea leaves. *Food chemistry*, 240, 1081–1086.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.004>.

Wu, C., Huang, Y., Lai, X., Lai, R., Zhao, W., Zhang, M., & Zhao, W. (2014). Study on quality components and sleep-promoting effect of GABA Maoyecha tea. *Journal of Functional Foods*, 7, 180–190. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.02.013>.

Liao, J., Wu, X., Xing, Z., Li, Q., Duan, Y., Fang, W., & Zhu, X. (2017b).  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) Accumulation in Tea (*Camellia sinensis* L.) through the GABA Shunt and Polyamine Degradation Pathways under Anoxia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(14), 3013–3018. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00304>.

- Li, L., Dou, N., Zhang, H., & Wu, C. (2021). The versatile GABA in plants. *Plant signaling & behavior*, 16(3), 1862565. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1862565>.
- Signorelli, S., Dans, P. D., Coitiño, E. L., Borsani, O., & Monza, J. (2015). Connecting Proline and  $\gamma$ -Aminobutyric Acid in Stressed Plants through Non-Enzymatic Reactions. *PLoS ONE*, 10(3), e0115349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115349>.
- Corpas, F. J., Palma, J. M., Del Río, L. A., & Barroso, J. B. (2013). Protein tyrosine nitration in higher plants grown under natural and stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00029>.
- Adamipour, N., Nazari, F. and Teixeira da Silva, J.A. (2025). GABA Biosynthesis Pathways and its Signaling in Plants. In *GABA in Plants* (eds S. Singh, D.K. Tripathi and V.P. Singh). <https://doi.org/10.1002/9781394217786.ch2>.
- Cao, S., Cai, Y., Yang, Z., & Zheng, Y. (2012). MeJA induces chilling tolerance in loquat fruit by regulating proline and  $\gamma$ -aminobutyric acid contents. *Food Chemistry*, 133(4), 1466–1470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.035>.
- Casaretto, E., Signorelli, S., Gallino, J. P., Vidal, S., & Borsani, O. (2020). Endogenous •NO accumulation in soybean is associated with initial stomatal response to water deficit. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 564–576. <https://doi.org/10.1111/ppl.13259>
- Verslues, P. E., & Sharp, R. E. (1999). Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. II. Metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. *Plant physiology*, 119(4), 1349–1360. <https://doi.org/10.1104/pp.119.4.1349>.
- Yoshida, Y., Kiyosue, T., Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (1997). Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant & cell physiology*, 38(10), 1095–1102. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029093>.
- Wahono, E., Izzati, M., & Parman, S. (2018). Interaksi antara Tingkat Ketersediaan Air dan Varietas terhadap Kandungan Prolin serta Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* L. Merr). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 3(1), 11. <https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.11-19>.
- Pritchard, S. G., Ju, Z., van Santen, E., Qiu, J., Weaver, D. B., Prior, S. A., & Rogers, H. H. (2000). The influence of elevated CO<sub>2</sub> on the activities of antioxidative enzymes in two soybean genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27(11), 1061–1068. <https://doi.org/10.1071/pp99206>
- Konstantinova, T., Parvanova, D., Atanassov, A., & Djilianov, D.



(2002). Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Science*, 163(1), 157–164.  
[https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(02\)00090-0](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(02)00090-0).

Delauney, A. J., & Verma, D. P. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, 4(2), 215–223.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1993.04020215.x>.

Tsushida, T., & Murai, T. (1987). Conversion of Glutamic Acid to  $\gamma$ -Aminobutyric Acid in Tea Leaves under Anaerobic Conditions. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(11), 2865–2871.  
<https://doi.org/10.1080/00021369.1987.10868498>.