



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK TEH HIJAU, TEH HITAM, DAN TEH OOLONG
(*Camellia sinensis*) SECARA IN VITRO DENGAN METODE DPPH**

SKRIPSI

Oleh

Andra Dwi Saputri

NIM 132210101035

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK TEH HIJAU, TEH HITAM, DAN TEH OOLONG
(*Camellia sinensis*) SECARA IN VITRO DENGAN METODE DPPH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Andra Dwi Saputri

NIM 132210101035

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT. yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan serta limpahan kasih-Nya memberikan kemudahan, memberikan kelancaran, memberikan arti dan kekuatan hidup;
2. Almarhum bapak, dan ibu yang telah membesarkan saya dengan penuh kasih sayang, kesabaran, kerja keras dan doa beliau, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
3. Mas Anton, Dek Govin dan Paklik Ujang yang telah memberikan kasih sayang, motivasi dan doa sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. Guru, dosen dan pendidik Fakultas Farmasi Universitas Jember, SMAN 1 Lumajang, SMPN 2 Lumajang, MI Nurul Islam Selokbesuki, dan RA Muslimat NU Selokbesuki, yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Tak perlu bersikeras menjelaskan siapa dirimu karena yang mencintaimu tak membutuhkan itu dan yang membencimu tak akan percaya itu”

(Ali bin Abi Thalib)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Andra Dwi Saputri

NIM : 132210101035

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skринing Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Oolong (*Camellia Sinensis*) secara in Vitro dengan Metode DPPH” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 25 Juli 2017

Yang menyatakan,

Andra Dwi Saputri
NIM. 132210101035

SKRIPSI

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK TEH HIJAU, TEH HITAM, DAN TEH OOLONG
(*Camellia sinensis*) SECARA IN VITRO DENGAN METODE DPPH**

Oleh

Andra Dwi Saputri

NIM 132210101035

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Oolong (*Camellia Sinensis*) secara in Vitro dengan Metode DPPH” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 25 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm.
NIP 197812212005012002

Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198404062009122008

Tim Penguji :

Penguji I,

Penguji II,

Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198505112014042001

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198504282009121004

Mengesahkan

Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197604142002122001

ABSTRACT

Tea is one of the most plant widely used for beverage and has some of antioxidant compounds from its phenol and flavonoid. The aim of this research was to determine the content of compound groups, total flavonoid and phenol content, and antioxidant activity of green tea, black tea, and oolong tea from PTPN XII Jember. Total flavonoid content was measured by the method of AlCl₃, total phenol content was measured by Follin-Ciocalteu method, and antioxidant activity was measured by DPPH free radical scavenging method. Phytochemical screening showed that all three extracts contain flavonoids, glycosides, saponins, and catecholic tannins. Total flavonoid content of green tea, black tea, and oolong tea were 67.991±0.831 mg QE/g, 17.128±0.799 mg QE/g, and 33.234±0.575 mg QE/g. Total phenol content of green tea, black tea, and oolong tea were 386.495±2.345 mg GAE/g, 241.679±5.033 mgGAE/g and 270.905±0.816 mg GAE/g respectively. The IC₅₀ of green tea, black tea, and oolong tea were 4.717±0.129 µg/mL, 4.908±0.208 µg/mL, 6.331±0.278 µg/mL. We can conclude that green tea has total flavonoid and phenolic contents higher than other tea, while green tea and oolong tea have the same antioxidant activity.

Keywords : tea, phytochemical screening, total flavonoid content, total phenolic content, antioxidant

RINGKASAN

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Oolong (*Camellia Sinensis*) secara in Vitro dengan Metode DPPH; Andra Dwi Saputri; 132210101035; 92 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Teh merupakan salah satu jenis tanaman yang populer digunakan sebagai minuman, bahkan masyarakat dunia memosisikan teh sebagai minuman kedua setelah air putih. Tanaman ini kaya akan kandungan polifenol dan flavonoid yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan sebuah pertahanan utama tubuh dalam melawan kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Suatu radikal bebas yang jumlahnya dalam tubuh melebihi efek protektif antioksidan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif seperti penyakit jantung, kanker, gangguan neurodegeneratif, dan kondisi kronis lainnya. Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong yang berasal dari produk teh PTPN XII Jember dengan metode DPPH.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa, kadar flavonoid dan fenol total, serta aktivitas antioksidan dari teh hijau, teh hitam, dan teh oolong. Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories*. Kadar flavonoid total diukur dengan metode AlCl_3 , yaitu dengan cara mereaksikan sampel atau standar kuersetin dengan NaNO_2 5%, AlCl_3 10%, NaOH 1 M dan akuades yang kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar fenol total diukur dengan metode Follin-Ciocalteu, yaitu dengan cara mereaksikan sampel atau standar asam galat dengan Folin-Ciocalteu (1:10) dan Na_2CO_3 7,5% yang kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 760 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode penangkapan radikal bebas dengan DPPH, yaitu dengan cara

mereaksikan larutan DPPH dengan sampel atau pembanding vitamin C yang kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong adalah golongan senyawa flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin *catecholic*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total teh hijau, teh hitam, dan teh oolong yaitu $67,991 \pm 0,831$ mgQE/g, $17,128 \pm 0,799$ mgQE/g, dan $33,234 \pm 0,575$ mgQE/g. Kadar fenol total teh hijau, teh hitam, dan teh oolong yaitu $386,495 \pm 2,345$ mgGAE/g, $241,679 \pm 5,033$ mgGAE/g, dan $270,905 \pm 0,816$ mgGAE/g. Nilai IC_{50} teh hijau, teh hitam, dan teh oolong yaitu $4,717 \pm 0,129$ μ g/mL, $4,908 \pm 0,208$ μ g/mL, $6,331 \pm 0,278$ μ g/mL. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Hasil uji Anova yang dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk kadar flavonoid dan fenol total menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada setiap sampel ekstrak air teh, ditunjukkan dengan nilai p yang diperoleh $< 0,01$. Hasil uji Anova yang dilanjutkan dengan uji LSD untuk aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada ekstrak air teh hijau dibandingkan dengan teh hitam dan teh hitam dibandingkan dengan teh oolong yang ditunjukkan dengan nilai p yang diperoleh $< 0,01$, namun tidak ada perbedaan yang signifikan pada teh hijau dibandingkan dengan teh oolong yang ditunjukkan dengan nilai p yang diperoleh $> 0,01$.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Skruining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Oolong (*Camellia Sinensis*) secara in Vitro dengan Metode DPPH”. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini berkat campur tangan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada:

1. Allah SWT. yang telah memberikan karunia kehidupan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
2. Alm. Bapak Misran Suyudi, Ibuk Hasiatun, Paklik Ujang Wasiono, Mas Anton Agus Saputro dan Adek Govinda Lasmana tercinta yang telah menjadi orangtua dan saudara terbaik, yang selalu memberikan banyak motivasi dan nasehat, yang tiada lelah memberikan cinta, perhatian, kasih sayang, serta doa yang tiada henti di setiap langkah penulis;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Ibu Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
5. Ibu Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah berkenan untuk

menguji skripsi ini dan memberikan masukan serta saran untuk perkembangan diri penulis dan skripsi ini;

6. Ibu Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan banyak waktu untuk membimbing dalam masalah perkuliahan penulis;
7. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi;
8. Mbak Indri dan Mbak Dinik, selaku teknisi laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah bersedia dengan sabar memberikan banyak bantuan selama menempuh penelitian ini;
9. Rekan kerja sesama laboratorium, Tim PORSTEX (Fergi, Risti, Nila), Socorex (Edwin, Sugi, Ayunda, Fara), tim HERMLEY (Cila dan Raras), tim BIOLYZER (Putri Efina dan Laily), Zulfiah, Nina, Chita, Elsa, Renova, Fiki, dan Disya untuk semangat dan kebersamaannya dalam senang maupun susah;
10. Para sahabat (Wul, Ine, Fina, Iyem, Sulfiati, Riska, Yasinta, Indana, Aulia, Erika) dan teman spesial Alexander Rafsanjani untuk semangat dan kebersamaannya dalam senang maupun susah;
11. Keluarga besar Farmasetamol FFUJ Angkatan 2013 atas kekeluargaan, persaudaraan, dan kebersamaan selama ini;
12. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, dan untuk seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang turut berbahagia atas keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Tentunya sebagai manusia biasa, penyusunan dan penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya baik bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian di masa mendatang.

Jember, 20 Juni 2017

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
HALAMAN <i>ABSTRACT</i>	viii
HALAMAN RINGKASAN	ix
HALAMAN PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR RUMUS	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan tentang Tanaman Teh.....	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Deskripsi	5
2.1.3 Morfologi	6
2.1.4 Fitokimia Teh.....	7
2.1.5 Penggolongan Teh	8

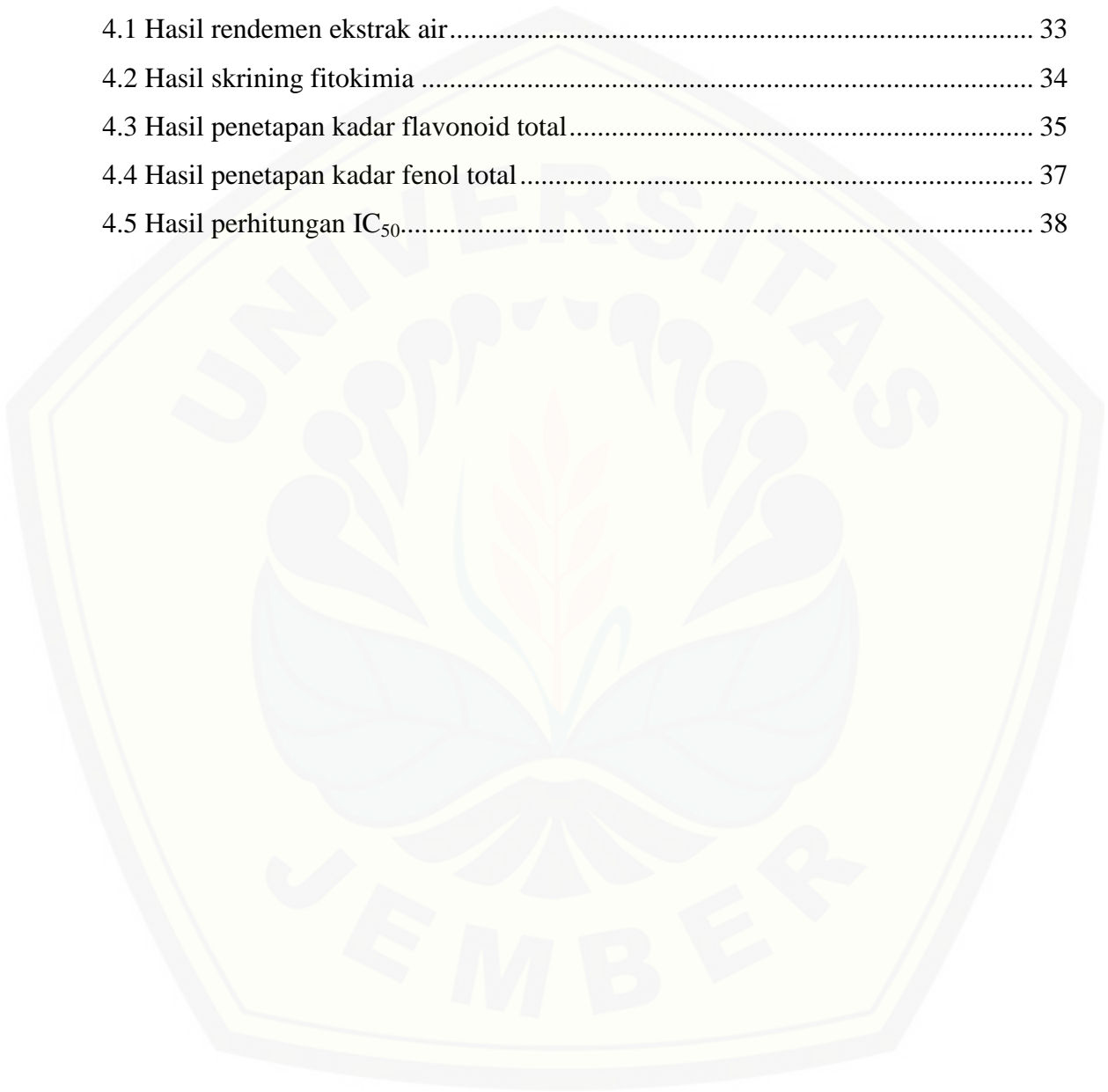
Teh Hijau	8
Teh Hitam	9
Teh Oolong	9
Teh Putih.....	10
2.1.6 Penelitian Teh Terdahulu.....	10
2.2 Tinjauan tentang Ekstraksi	11
2.3 Tinjauan tentang Radikal Bebas dan Antioksidan.....	12
2.4 Tinjauan tentang Senyawa Fenol dan Flavonoid	14
2.4.1 Fenol	14
2.4.2 Flavonoid	16
2.5 Tinjauan tentang Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan	17
2.5.1 Metode DPPH.....	17
2.5.2 Metode ABTS	18
2.5.3 Metode TRAP	19
2.5.4 Metode FRAP	19
2.5.5 Metode Xantin Oksidase.....	19
2.5.6 Metode Kekuatan Pereduksi	19
2.5.7 Aktivitas Penghambatan Radikal Superoksida.....	20
2.5.8 Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil.....	20
2.5.9 Aktivitas Penghambatan Radikal Oksida Nitrat	21
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	22
3.2 Jenis Penelitian.....	22
3.3 Variabel Penelitian.....	22
3.3.1 Variabel Bebas.....	22
3.3.2 Variabel Terikat	22
3.3.3 Variabel Terkendali	22
3.4 Alat dan Bahan Uji	22

3.4.1	Alat Uji	22
3.4.2	Bahan Uji	23
3.5	Ekstraksi Daun Teh	23
3.6	Skrining Fitokimia	23
3.7	Penetapan Kadar Flavonoid Total	24
3.7.1	Pembuatan Larutan Uji	24
3.7.2	Pembuatan Larutan Baku Standar Kuersetin	25
3.7.3	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum.....	25
3.7.4	Penetapan Kadar	25
3.7.5	Perhitungan.....	26
3.8	Penetapan Kadar Fenol Total.....	26
3.8.1	Pembuatan Larutan Uji	26
3.8.2	Pembuatan Larutan Baku Standar Kuersetin	26
3.8.3	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum.....	27
3.8.4	Penetapan Kadar.....	27
3.8.5	Perhitungan	27
3.9	Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH	28
3.9.1	Pembuatan Larutan Uji	28
3.9.2	Pembuatan Larutan Vitamin C	28
3.9.3	Pembuatan Larutan DPPH.....	28
3.9.4	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum.....	28
3.9.5	Penentuan Waktu Inkubasi.....	29
3.9.6	Pengujian Aktivitas Antioksidan	29
3.9.7	Perhitungan.....	29
3.10	Analisis Data.....	30
3.11	Skema Kerja.....	31
3.11.1	Skema Kerja secara Umum.....	31
3.11.1	Skema Uji Aktivitas Antioksidan	32

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1 Hasil.....	33
4.1.1 Pembuatan Ekstrak Air	33
4.1.2 Skrining Fitokimia	33
4.1.3 Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenol Total.....	34
4.1.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan	37
4.2 Pembahasan.....	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil rendemen ekstrak air.....	33
4.2 Hasil skrining fitokimia	34
4.3 Hasil penetapan kadar flavonoid total.....	35
4.4 Hasil penetapan kadar fenol total.....	37
4.5 Hasil perhitungan IC ₅₀	38

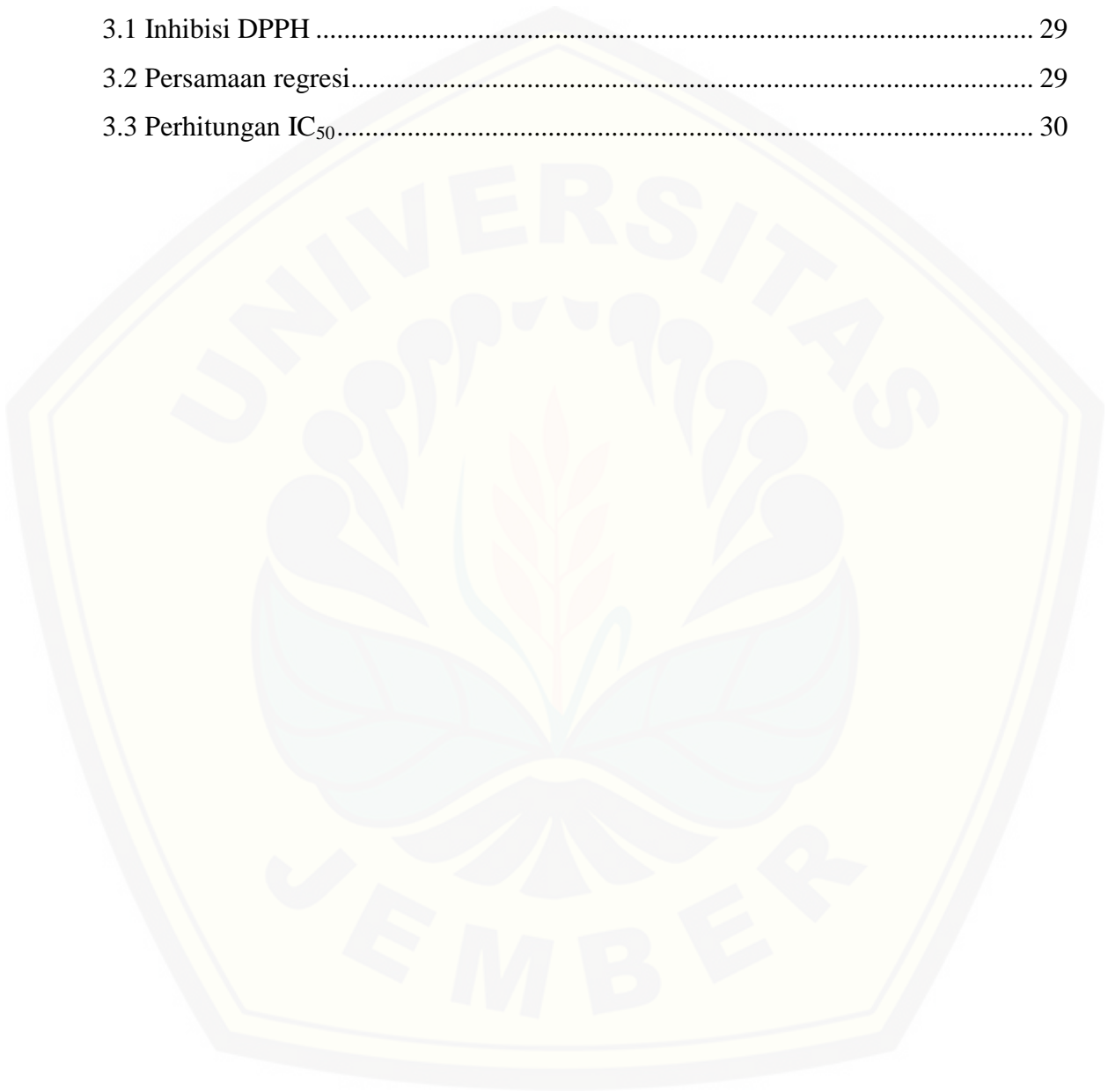


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi tanaman teh.....	7
2.2 Proses pengolahan teh.....	8
2.3 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol	15
2.4 Pembentukan senyawa kompleks kuersetin- AlCl_3	17
2.5 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas	17
3.1 Skema kerja secara umum.....	31
3.2 Skema uji aktivitas antioksidan.....	32

DAFTAR RUMUS

	Halaman
3.1 Inhibisi DPPH	29
3.2 Persamaan regresi.....	29
3.3 Perhitungan IC_{50}	30



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
4.1 Perhitungan % rendemen.....	50
4.2 Pembuatan larutan pada penetapan kadar flavonoid total	50
4.3 Penentuan panjang gelombang standar kuersetin	52
4.4 Perhitungan hasil penetapan kadar flavonoid total.....	52
4.5 Pembuatan larutan pada penetapan kadar fenol total	54
4.6 Penentuan panjang gelombang standar asam galat.....	55
4.7 Penentuan waktu inkubasi penetapan kadar fenol total.....	56
4.8 Perhitungan hasil penetapan kadar fenol total	57
4.9 Perhitungan bahan pengujian aktivitas antioksidan.....	59
4.10 Pengujian peredaman radikal bebas.....	65
4.11 Penentuan panjang gelombang optimum DPPH.....	68
4.12 Penentuan waktu inkubasi pengujian aktivitas antioksidan	69
4.13 Perhitungan % peredaman dan IC ₅₀	70
4.14 Hasil uji anova dan LSD.....	85
4.15 Gambar ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong	88
4.16 Gambar penetapan kadar flavonoid total.....	89
4.17 Gambar penetapan kadar fenol total.....	89
4.18 Gambar pengujian aktivitas antioksidan.....	89
4.19 Hasil skrining fitokimia	90

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital molekuler (Lone *et al.*, 2013). Proses pembentukan radikal bebas dapat berasal dari pengaruh lingkungan maupun terjadi secara alami di dalam tubuh melalui proses metabolisme sel normal (Meydani, 2000). Suatu radikal bebas yang jumlahnya dalam tubuh melebihi efek protektif antioksidan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif seperti penyakit jantung, kanker, gangguan neurodegeneratif, dan kondisi kronis lainnya (Rahman, 2007). Tubuh memiliki sebuah pertahanan utama dalam melawan kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas yaitu dengan adanya antioksidan (Percival, 1996).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksigen reaktif dan radikal bebas dalam tubuh. Senyawa antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang lebih stabil dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan (Rahman, 2007). Antioksidan diklasifikasikan menjadi dua, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetik. Antioksidan sintetik yang biasa digunakan dalam produk makanan yaitu BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan BHT (Butil Hidroksi Toluena) yang dengan dosis berlebih dapat bersifat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker) (Venkatesh dan Sood, 2011). Contoh antioksidan alami adalah antioksidan mineral, antioksidan vitamin, dan antioksidan fitokimia seperti senyawa fenol termasuk flavonoid. Katekin merupakan senyawa flavonoid yang banyak terkandung dalam teh hijau dan teh hitam (Hamid *et al.*, 2010).

Teh merupakan salah satu jenis tanaman yang populer digunakan sebagai minuman, bahkan masyarakat dunia memosisikan teh sebagai minuman kedua setelah air putih (Rohdiana, 2015). Menurut data *Food and Agriculture Organization* (2015), pada tahun 2013 konsumsi teh di dunia mencapai 4,8 juta ton per tahun dan di

Indonesia mencapai 64,9 ribu ton per tahun. Berdasarkan data dari Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2015), pada tahun 2014 konsumsi teh di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 0,61 kg/kapita/tahun. Berdasarkan proses pengolahannya, jenis teh dibedakan menjadi tiga, yaitu teh tanpa fermentasi (teh hijau dan teh putih), teh semifermentasi (teh oolong), dan teh fermentasi (teh hitam). Semua jenis teh tersebut berasal dari bahan baku yang sama yaitu tanaman teh atau *Camellia sinensis*. Tanaman teh yang dibudidayakan secara komersial terdiri dari dua varietas utama, yaitu *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *sinensis* (banyak dibudidayakan di Cina dan Jepang untuk membuat teh hijau) dan *Camellia sinensis* (Master) Kitamura var. *assamica* (banyak dibudidayakan di India, Srilanka, Kenya, dan Indonesia) (Rohdiana, 2015).

Teh tidak hanya berperan sebagai minuman yang memberi rasa segar dan nikmat, namun juga memiliki banyak manfaat untuk kesehatan seperti antioksidan (Sudaryat *et al.*, 2015, Veljkovic *et al.*, 2013, Wdyasanti *et al.*, 2016), antikanker (Mukhtar dan Ahmad, 2010), antidiabetes (Gomes *et al.*, 1995), antikolesterol (Widowati *et al.*, 2011), dan antiinflamasi (Sur *et al.*, 2001). Khasiat utama teh terletak pada komponen bioaktifnya, yaitu polifenol yang secara optimal terkandung dalam daun teh (Syah, 2006). Polifenol adalah senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus fenol yaitu senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang terikat langsung pada cincin aromatik (Rappoport, 2003). Salah satu golongan senyawa fenol yang terbesar adalah flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok antioksidan alami yang bekerja dengan cara mendonasikan atom hidrogennya (Redha, 2010).

Berdasarkan penelitian, teh hijau memiliki kandungan total polifenol tertinggi yaitu 36% dari berat kering basisnya dibandingkan dengan teh hitam (Veljkovic *et al.*, 2013). Penelitian lain menyebutkan bahwa kadar polifenol teh putih dari ekstrak n-heksana menghasikan rendemen sebesar 22 %, ekstrak etil asetat sebesar 57,54% dan ekstrak etanol 96% sebesar 59,32% dari berat kering basisnya (Widyasanti *et al.*, 2016). Kadar fenol dan flavonoid total teh hitam memiliki korelasi yaitu semakin

tinggi kadar fenol total, maka semakin tinggi pula kadar flavonoidnya, namun tidak berkorelasi positif dengan aktivitas antioksidannya (Sudaryat *et al.*, 2015). Penelitian lain menyebutkan bahwa nilai korelasi antara aktivitas antioksidan (IC_{50}) dan kadar polifenol teh putih sebesar 0,99. Nilai IC_{50} dari ekstrak n-heksana teh putih sebesar 203,7846 ppm; IC_{50} dari ekstrak etil asetat teh putih sebesar 11,207 ppm dan IC_{50} ekstrak etanol 96% teh putih sebesar 5,153 ppm, sedangkan kontrol positif aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C dengan nilai IC_{50} sebesar 6,285 ppm (Widyasanti *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong yang berasal dari produk teh PTPN XII Jember dengan metode DPPH. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan secara *in vitro* karena metode tersebut umum digunakan, lebih cepat, sederhana, akurat, relatif tidak mahal, dan mampu mengukur segala komponen yang bertindak sebagai antioksidan (Prakash *et al.*, 2001).

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah kandungan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong?
2. Bagaimana perbandingan kadar flavonoid dan fenol total pada ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong?
3. Bagaimana perbandingan nilai IC_{50} pada ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menjawab rumusan masalah, yaitu :

1. Mengetahui kandungan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong.

2. Mengetahui perbandingan kadar flavonoid dan fenol total pada ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong.
3. Mengetahui perbandingan nilai IC_{50} pada ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dalam penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang kandungan golongan senyawa dan potensi antioksidan ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong.
2. Meningkatkan nilai guna tanaman teh.
3. Sebagai sumber informasi terhadap penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang Tanaman Teh

2.1.1. Klasifikasi

Berdasarkan *USDA Plants Database* (2017), klasifikasi tanaman teh adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Theales
Suku/Famili	: Theaceae
Genus	: <i>Camellia</i> L.
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze

2.1.2. Deskripsi

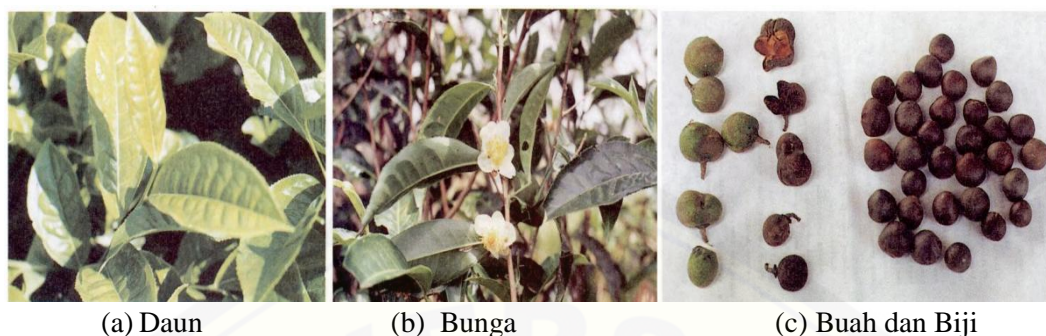
Tanaman teh berasal dari daerah Cina, Tibet, dan India bagian utara (Somantri dan Tanti, 2011). Kebiasaan menggunakan teh dalam upacara-upacara tradisional di Cina dan Jepang masih dilakukan hingga saat ini. Pada abad ke-6 Masehi, teh mulai diperdagangkan ke negara lain oleh orang Cina hingga pada abad ke-17 Masehi, teh telah menyebar ke seluruh dunia. Teh pertama kali masuk ke Indonesia pada tahun 1684, dibawa oleh orang Jerman bernama Andreas Cleyer berupa biji teh dari Jepang (Setyamidjaja, 2000).

Sejarah penamaan teh pertama kali diperkenalkan oleh Linnaeus yang dinamakan *Thea sinensis*, kemudian di India dan Srilanka dikenal sebagai *Camelia thea*. Cohen Stuart dari Indonesia menggunakan istilah *Camelia theifera* dan sampai

sekarang memakai nama yang diperkenalkan oleh O. Kuntze yaitu *Camelia sinensis* (Setyamidjaja, 2000). Tanaman teh berasal dari genus *Camellia*, yang dibagi menjadi 2 varietas utama. Varietas berdaun kecil, hidup di daerah pegunungan tinggi yang sejuk di Cina tengah dan Jepang, dikenal sebagai *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *sinensis* dan varietas berdaun lebar, sangat baik tumbuh di daerah beriklim tropis dan lembab, banyak ditemukan di India timur, provinsi Szechuan dan Yunnan di Cina, serta di Indonesia, dikenal sebagai *Camellia sinensis* (Master) Kitamura var. *assamica* (Somantri dan Tanti, 2011).

2.1.3. Morfologi

Tanaman teh memiliki ciri berakar dangkal, peka terhadap keadaan fisik tanah, dan cukup sulit menembus lapisan tanah. Kebanyakan perdu mempertahankan akar tunggang sedalam 90-150 cm dengan diameter sekitar 7,5 cm. Daun selalu berwarna hijau, berbentuk lonjong, ujungnya runcing, tepinya bergerigi, dan besarnya berkisar 2,5-25 cm, tergantung varietasnya. Bunga sempurna mempunyai putik dengan 5-7 mahkota, daun bunga berwarna putih halus berlilin berbentuk lonjong cekung, tangkai sari panjang dengan benang sari kuning bersel kembar, menonjol 2-3 mm ke atas, putik berambut 3-5 helai. Buah yang masih muda berwarna hijau, bersel 3, dan berdinding tebal, mula-mula berkilat, tetapi semakin tua bertambah suram dan kasar. Bijinya berwarna coklat beruang 3, berkulit tipis, berbentuk bundar di satu sisi dan datar di sisi lain, berbelah 2 dengan kotiledon besar (Setyamidjaja, 2000). Morfologi tanaman teh dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi tanaman teh (Setyamidjaja, 2000)

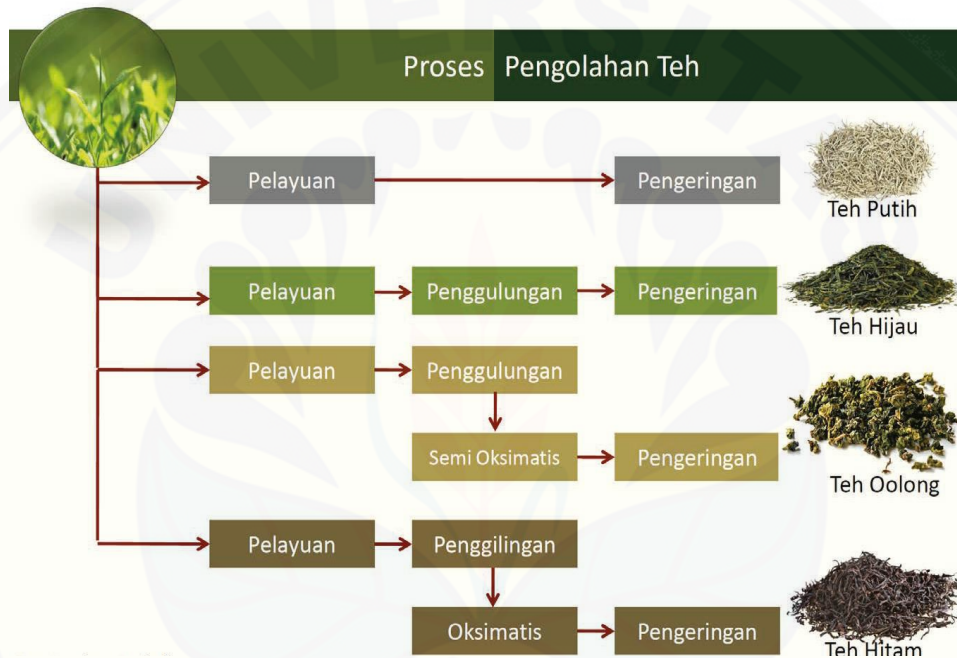
2.1.4. Fitokimia Teh

Kandungan senyawa kimia dalam daun teh dapat digolongkan menjadi empat kelompok besar, yaitu golongan fenol, golongan bukan fenol, golongan aromatis, dan enzim. Golongan fenol yang terdapat dalam daun teh adalah katekin dan flavanol. Golongan bukan fenol terdiri dari karbohidrat, pektin, alkaloid, asam organik, resin, vitamin, mineral, protein dan asam-asam amino, serta klorofil dan zat warna lainnya. Senyawa aromatis yang secara alamiah sudah ada pada daun teh diantaranya adalah linalool, linalool oksida, geraniol, benzil alkohol, metil salisilat, n-heksanal dan cis-3-heksenol. Enzim yang terkandung dalam daun teh diantaranya adalah invertase, amilase, β -glukosidase, oksimetilase, protease, dan peroksidase (Towaha, 2013).

Menurut Chaturvedula dan Prakash (2011), komponen kimia terbesar dalam teh yaitu polifenol yang terdiri dari flavanol, hidroksil-4-flavanol, antosianin, flavon, flavonol dan asam fenolat. Komponen terpenting dari polifenol teh yaitu flavanol atau katekin (*flavan-3-ol*). Katekin terdiri dari: (-)-*epicatechin* (EC), (-)-*epicatechin gallate* (ECG), (-)-*epigallocatechin* (EGC), (-)-*epigallocatechin gallate* (EGCG), (+)-*catechin* (C), dan (+)-*gallocatechin* (GC) yang memberikan rasa pahit pada teh. Teh juga mengandung flavonol yang terdiri dari kuersetin, kaempferol, miresetin, dan glikosida. Teh mengandung sejumlah asam amino, klorofil, *carotenoids*, lipid dan senyawa volatil (berperan dalam aroma teh).

2.1.5. Penggolongan Teh

Berdasarkan proses pengolahannya, jenis-jenis teh dibedakan menjadi tiga, yaitu teh tanpa fermentasi (teh hijau dan teh putih), teh semifermentasi (teh oolong), dan teh fermentasi (teh hitam) (Rohdiana, 2015). Proses pengolahan teh dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Proses pengolahan teh (Rohdiana, 2015)

a. Teh Hijau

Teh hijau banyak dikonsumsi di negara Cina, Jepang, India, dan beberapa negara di Afrika Utara dan Timur Tengah. Polifenol terbesar dalam teh hijau yaitu *flavanols* atau dikenal sebagai katekin (*epicatechin*, *epicatechin-3-gallate*, *epigallocatechin* dan *epigallocatechin-3-gallate*) (Mukhtar dan Ahmad, 2010). Prinsip dasar proses pengolahan teh hijau yaitu inaktivasi enzim polifenol oksidase untuk mencegah terjadinya oksimatis (oksidasi enzimatik) yang mengubah polifenol menjadi senyawa

oksidasinya berupa teaflavin dan tearubigin. Daun teh yang sudah dilayukan, kemudian digulung dan dikeringkan sampai kadar air tertentu (Rohdiana, 2015).

b. Teh Hitam

Teh hitam adalah teh yang mengalami oksidasi penuh, sehingga warnanya coklat gelap dan hasil seduhannya berwarna coklat kemerahan sampai coklat pekat. Selain itu, proses oksidasi menyebabkan berkurangnya rasa pahit daun teh segar dan memberikan efek kental pada seduhannya (Somantri dan Tanti, 2011). Dibandingkan dengan jenis teh lainnya, teh hitam merupakan teh yang paling banyak diproduksi yaitu sekitar 78%, diikuti teh hijau 20% kemudian sisanya adalah teh oolong dan teh putih yaitu 2%. Proses pengolahan daun teh hitam yaitu dilayukan semalam 8-18 jam. Setelah layu, daun teh digulung, digiling dan dioksimatis selama kurang lebih 1 jam. Proses selanjutnya adalah pengeringan yang bertujuan untuk menghentikan proses oksimatis dan menurunkan kadar air. Teh kering selanjutnya disortasi dan *digrading* untuk menghasilkan jenis mutu teh tertentu (Rohdiana, 2015). Pada teh hitam, proses oksidasi menyebabkan terbentuknya kompleks katekin dan asam galat yaitu: *theaflavins*, *theaflavinic acids*, *thearubigins* atau *theasinensis*, dan *proanthocyanidin polymers*. *Methylxanthines* juga terkandung dalam teh, sebesar 2-4% sebagai kafein dan sejumlah kecil *theophylline* dan *theobromine* (Chaturvedula dan Prakash, 2011).

c. Teh Oolong

Teh oolong disebut juga *semi-fermented tea* (fermentasi sebagian). Berdasarkan tingkat oksidasinya, teh oolong dikategorikan dalam 4 kelompok yaitu, oolong dengan tingkat oksidasi 5-15%, 20-30%, 30-40%, dan 60-70%. (Somantri dan Tanti, 2011). Proses pengolahannya yaitu dengan cara daun teh sesegara mungkin dilayukan dengan memanfaatkan panas matahari sambil digulung halus secara manual menggunakan tangan ataupun menggunakan mesin. Tujuan penggulangan halus ini adalah untuk mengoksidasi sebagian polifenol yang terdapat dalam daun teh. Proses

ini dikenal sebagai proses semi oksimatis. Setelah dipandang cukup semi oksimatisnya, daun teh kemudian dikeringkan (Rohdiana, 2015).

d. Teh Putih

Teh putih atau *white tea* merupakan teh dengan proses pengolahan paling sederhana, yaitu pelayuan dan pengeringan. Bahan baku yang digunakan untuk proses pembuatan teh putih hanya berasal dari pucuk dan dua daun dibawahnya. Pelayuan dapat dilakukan dengan memanfaatkan panas dari sinar matahari. Kemudian, daun teh yang sudah layu dikeringkan menggunakan mesin pengering (Rohdiana, 2015).

2.1.6. Penelitian Teh Terdahulu

Berdasarkan penelitian sebelumnya, teh memiliki beberapa khasiat, antara lain ekstrak teh hijau dapat memperbaiki berat badan, kadar gula darah, kadar lemak, kadar protein, menjaga marker serum ginjal (kreatinin, urea, dan asam urat), menurunkan enzim liver (SGPT dan SGOT) pada mencit diabetes (Al-Attar dan Zari, 2010), mereduksi lemak dan kelainan metabolisme glukosa pada penderita DM tipe 2, dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskular, mencegah karsinogenik pada lambung (Crespy dan Williamson, 2004), dan menormalkan tekanan sistolik (Babu *et al.*, 2006). Ekstrak teh hitam beraktivitas sebagai antikolesterol sebesar 97,434%, dan beraktivitas sebagai antiagregasi platelet pada fraksi etil asetat sebesar 4,31% (Widowati *et al.*, 2011)

Seduhan teh hijau dan teh hitam dapat mengurangi kadar glukosa darah secara signifikan pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* dan memiliki aktivitas sebagai antidiabetes (Gomes *et al.*, 1995). Ekstrak teh hijau dapat memberikan efek antihiperglukemia dengan menghambat transporter glukosa di usus dan menurunkan gen yang mengontrol glukoneogenesis. Penelitian secara *in vitro* juga menunjukkan bahwa katekin dapat menghambat enzim pencernaan seperti amilase, sukrase, dan α -glucosidase yang kemungkinan dapat menurunkan kadar glukosa darah (Babu *et al.*,

2006). Ekstrak teh hitam dapat menangkap radikal bebas (DPPH) sebesar 88,59-93,56% (Widowati *et al.*, 2011).

2.2. Tinjauan tentang Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut (Depkes RI, 1995). Terdapat beberapa metode ekstraksi, antara lain ekstraksi menggunakan pelarut dan destilasi uap. Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dibagi menjadi cara dingin (maserasi dan perkolasi) dan cara panas (refluks, sokletasi, digesti, infundasi dan dekok). Infundasi atau infusa adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit (Dirjen POM RI, 2000). Kelebihan dari metode ekstraksi infusa yaitu, peralatan yang digunakan sederhana, mudah dilakukan, biaya murah, dan dapat menyari simplisia menggunakan pelarut air dalam waktu singkat (Azwanida, 2015).

Faktor penting yang dapat memengaruhi hasil dari ekstraksi antara lain metode ekstraksi yang dipilih dan cairan pelarut yang digunakan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor meliputi sifat dari bahan mentah yang akan diekstraksi, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989). Menurut Harborne (1996), dengan adanya pemanasan dapat meningkatkan kemampuan ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk kandungan senyawa yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari kandungan senyawa

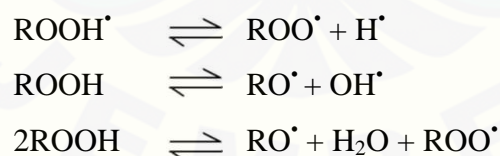
lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar kandungan senyawa yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut yang dipilih yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan dalam memilih pelarut adalah selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, serta keamanan (Dirjen POM RI, 2000).

2.3. Tinjauan tentang Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital molekuler (Lone *et al.*, 2013). Senyawa-senyawa organik yang memiliki ikatan tidak jenuh apabila bereaksi dengan oksigen yang ada di udara maka dapat menghasilkan senyawa radikal bebas. Reaksi ini dikenal dengan istilah autooksidasi. Menurut Gordon (1990) mekanisme reaksi autooksidasi ini dibagi dalam tiga tahapan reaksi, yaitu :

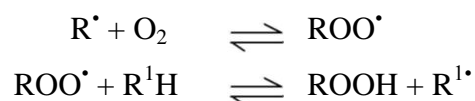
a. Tahap inisiasi

Tahap ini merupakan awal dari pembentukan radikal bebas yang dapat dikatalisis oleh adanya panas, cahaya matahari dan adanya ion logam.



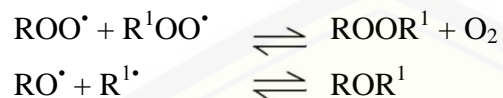
b. Tahap propagasi

Pada tahap ini terjadi perubahan radikal bebas menjadi radikal bebas dalam bentuk yang lain.



c. Tahap terminasi

Pada tahap ini terjadi reaksi antara sesama radikal bebas dan menghasilkan senyawa baru yang lebih stabil.



Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh melalui proses metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, maupun sebagai respon adanya radiasi sinar gama, ultraviolet (UV), polusi lingkungan, asap rokok, sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan, dan diet (pola makan sendiri) (Wijaya, 1996). Radikal bebas memicu kerusakan oksidatif yang dapat mengawali penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, gangguan neurodegeneratif, dan kondisi kronis lainnya (Rahman, 2007). Tubuh memiliki pertahanan utama dalam melawan kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas yaitu dengan adanya antioksidan (Percival, 1996).

Antioksidan adalah molekul yang mampu memperlambat ataupun mencegah oksidasi molekul lain. Oksidasi merupakan reaksi kimia dengan cara mentransfer elektron dari substansi ke agen oksidasi (Hamid *et al.*, 2010). Senyawa antioksidan akan menyerahkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang lebih stabil dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan (Rahman, 2007). Hamid *et al.* (2010) mengklasifikasikan antioksidan berdasarkan sumbernya menjadi dua, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetik. Antioksidan sekunder atau sintetik yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Contoh antioksidan sintetik antara lain, *Butylated hydroxyl anisole* (BHA), *Butylated hydroxyltoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *metal chelating agent* (EDTA), *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *Nordihydro guaretic acid* (NDGA). Antioksidan alami yaitu

antioksidan yang diperoleh dari bahan alam. Antioksidan alami dikelompokkan menjadi :

a. Antioksidan mineral

Antioksidan mineral adalah kofaktor antioksidan enzim. Keberadaannya memengaruhi metabolisme makromolekul kompleks seperti karbohidrat. Contoh: selenium, tembaga, besi, seng dan mangan.

b. Antioksidan vitamin

Antioksidan vitamin dibutuhkan untuk fungsi metabolisme tubuh. Contoh: vitamin C, vitamin E, vitamin B.

c. Antioksidan fitokimia

Antioksidan fitokimia adalah senyawa fenolik, yang bukan vitamin maupun mineral. Senyawa yang termasuk ke dalam golongan fitokimia adalah senyawa flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang memberi warna pada buah, biji-bijian, daun, bunga dan kulit. Sebagai contohnya adalah katekin yang merupakan senyawa antioksidan paling aktif pada teh hijau dan hitam, karotenoid adalah zat warna dalam buah-buahan dan sayuran, β karoten terdapat pada wortel dan dapat dikonversi menjadi vitamin A, likopen banyak terdapat dalam tomat, dan *zeaxantin* banyak terdapat pada bayam.

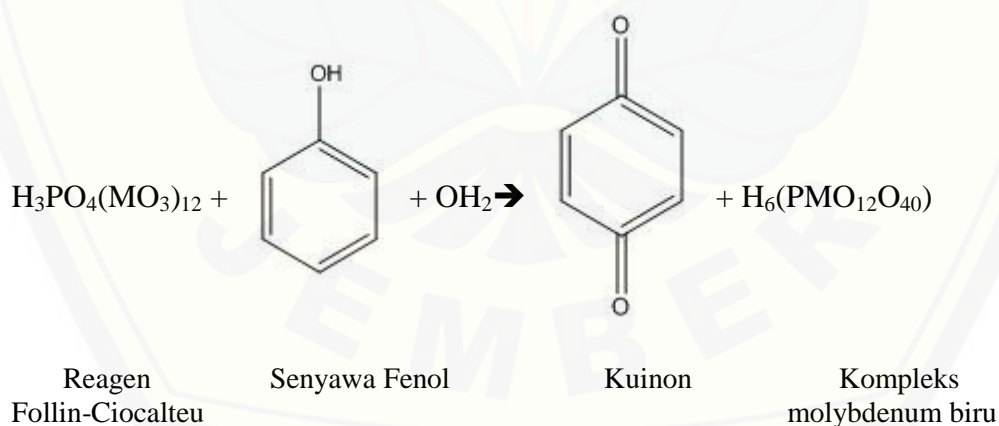
2.4. Tinjauan tentang Senyawa Fenol dan Flavonoid

2.4.1. Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil fenolik yang menempel pada satu atau lebih cincin aromatik disebut sebagai senyawa polifenol (Rappoport, 2003). Senyawa fenol menghambat radikal bebas dengan cara mendonorkan proton (atom hidrogen) ketika bereaksi dengan senyawa radikal sehingga proses oksidasi dihambat dan terbentuk radikal yang stabil (Tursiman *et al.*, 2012). Fenol terbagi menjadi fenol sederhana, asam fenolat dan

aldehid, asetofenon dan asam fenil asetat, asam sinamat, kumarin, biflavonil, benzofenon, antrakuinon, betasianin, lignin, lignan, tannin, flobafenon, dan flavonoid (Vermerris dan Nicholson, 2006).

Analisis penetapan kadar fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Reaksi antara senyawa fenolik dengan reagen Folin-Ciocalteu merupakan reaksi reduksi-oksidasi. Ketika senyawa fenolik dalam ekstrak sampel direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu akan terjadi pembentukan senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur dengan cahaya tampak pada spektrofotometri UV-Vis. Senyawa fenol akan mereduksi senyawa molibdat dan tungstat dalam Folin-Ciocalteu membentuk larutan kromofor yang berwarna biru (Prior *et al.*, 2005). Penambahan Na_2CO_3 pada uji fenolik bertujuan untuk memberikan suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin oleh gugus hidroksil dari fenolik dalam sampel. Pada metode ini digunakan asam galat sebagai standar. Metode ini merupakan metode yang relatif cepat, ekonomis, sederhana, dengan penampakan warna lebih baik (Khoddami *et al.*, 2013). Reaksi antara reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 2.3.

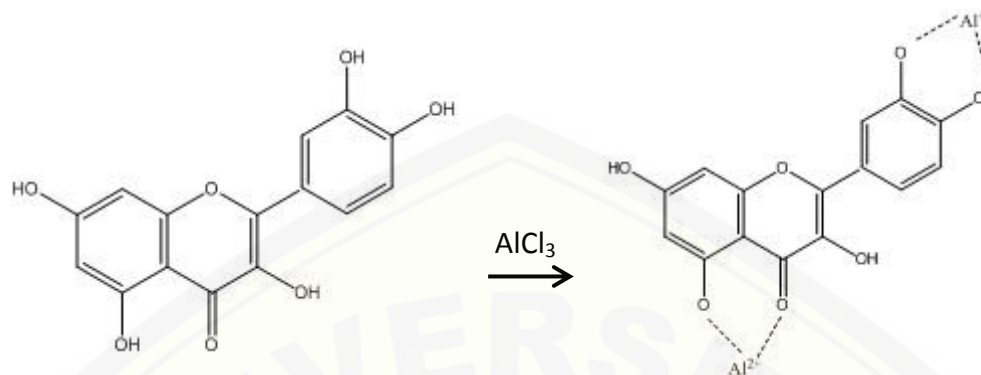


Gambar 2.3 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol (Tursiman *et al.*, 2012)

2.4.2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman dan termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Struktur kimia flavonoid yaitu $C_6-C_3-C_6$ (2 cincin benzena dihubungkan oleh sekelompok C_3 yang menjadi penentu klasifikasi senyawa flavonoid). Flavonoid diklasifikasikan menjadi 6 kelompok yaitu, *flavanones* (*naringenin*), *flavanonols* (*taxifolin*), *leucoanthocyanidins* (*catechin*) *flavones* (*kaemferol*, *quercetin*, dan *myricetin*), *anthocyanidins* (*cyanidin*) dan *deoxyanthocyanidins* (*apigenidin*), dan kelompok terakhir adalah *anthocyanins* (*petanin*) (Vermerris dan Nicholson, 2006). Flavonoid merupakan salah satu kelompok antioksidan alami yang bekerja dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

Analisis untuk menentukan kadar flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yaitu dengan mengukur nilai absorbansi (Neldawati *et al.*, 2013). Spektrum serapan ultraviolet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Harborne, 1996). Prinsip penetapan kadar flavonoid dengan metode aluminium klorida ($AlCl_3$) adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin (Kalita *et al.*, 2013). Reaksi pembentukan senyawa kompleks kuersetin dengan $AlCl_3$ dapat dilihat pada Gambar 2.4.

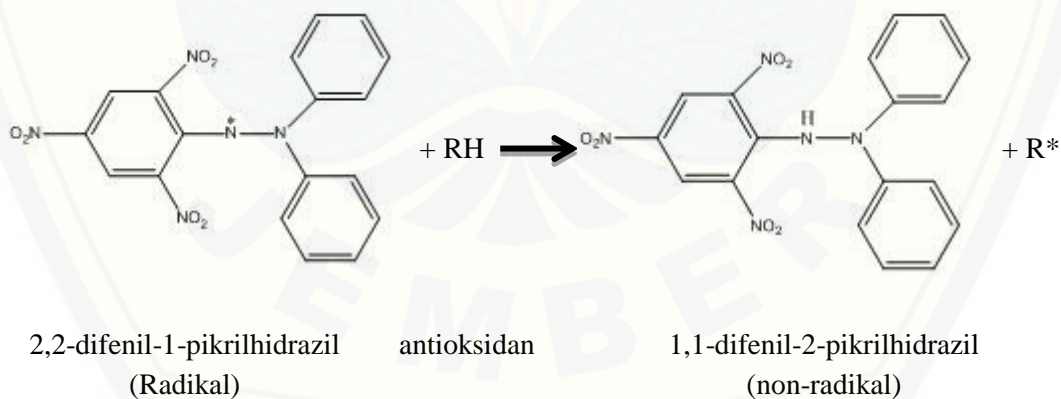


Gambar 2.4 Pembentukan senyawa kompleks kuersetin- AlCl_3 (Azizah *et al.*, 2014)

2.5. Tinjauan tentang Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

2.5.1. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padat maupun cair. Metode ini tidak bekerja secara spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, melainkan mengukur kapasitas antioksidan sampel secara keseluruhan (Prakash *et al.*, 2001). Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash *et al.*, 2001)

Molekul 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan radikal bebas yang bersifat stabil, sehingga molekul tersebut tidak reaktif. Ketika DPPH dicampur dengan senyawa antioksidan yang bekerja melalui mekanisme donasi atom hidrogen

akan menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004). Perubahan warna ungu menjadi kuning pucat tersebut menunjukkan penurunan konsentrasi radikal bebas sebagai akibat dari penambahan senyawa antioksidan (Dehpour *et al.*, 2009).

Persen penghambatan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi dari ekstrak. Nilai IC_{50} (*inhibition concentration*) menunjukkan persen penangkapan DPPH oleh sampel uji. Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50 % dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan $y = bx + a$. Nilai IC_{50} ini menunjukkan kekuatan antioksidan. Semakin kecil IC_{50} maka semakin besar kekuatan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas (Odumosu *et al.*, 2015).

2.5.2. Metode ABTS

Asam 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonat (ABTS) merupakan substrat dari peroksidase, dimana ketika dioksidasi dengan adanya H_2O_2 akan membentuk senyawa radikal kation metastabil $\text{ABTS}^{\bullet+}$ dengan karakteristik warna biru kehijauan yang menunjukkan absorbansi kuat pada panjang gelombang 414 nm. ABTS merupakan senyawa larut air dan stabil secara kimia (Antolovich *et al.*, 2001).

Akumulasi dari ABTS dapat dihambat oleh antioksidan yang dihasilkan dari reaksi kimia dengan aktivitas yang bergantung pada waktu reaksi dan jumlah antioksidan. Warna biru kehijauan dari radikal kation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ akan tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna. Kemampuan relatif antioksidan untuk mereduksi ABTS dapat diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 734 nm. Absorbansi maksimal juga dapat terjadi pada panjang gelombang yang lain. Panjang gelombang yang mendekati daerah infra merah (734 nm) dipilih untuk meminimalkan intervensi dari absorbansi komponen lainnya (Antolovich *et al.*, 2001; Chanda dan Dave, 2009).

2.5.3. Metode TRAP

Prinsip pengujian TRAP atau *Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter* didasarkan pada pengukuran konsumsi oksigen selama reaksi oksidasi lipid terkontrol yang diinduksi oleh dekomposisi termal dari AAPH (2,2'-Azobis(2-aminidopropana)hidroklorida) untuk mengukur total aktivitas antioksidan. Hasil uji ini diinterpretasikan sebagai jumlah (dalam mikromol) radikal peroksil yang terperangkap oleh 1 liter plasma. Pengukuran serum TRAP berdasarkan penentuan lamanya waktu yang diperlukan oleh serum uji untuk dapat bertahan dari oksidasi buatan (Antolovich *et al.*, 2001).

2.5.4. Metode FRAP

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) bekerja berdasarkan reduksi dari analog ferroin, kompleks Fe^{3+} dari tripiridiltriazin $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{3+}$ menjadi kompleks $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{2+}$ yang berwarna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm dan dapat dinyatakan sebagai jumlah Fe^{2+} (dalam mikromolar) ekuivalen dengan antioksidan standar (Antolovich *et al.*, 2001).

2.5.5. Metode Xantin Oksidase

Adanya antioksidan diukur dari persentase penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase. Enzim ini memproduksi asam urat dengan adanya radikal superoksida dari xantin. Hasil pengukuran diinterpretasikan dalam jumlah asam urat yang kemudian diukur pada panjang gelombang 292 nm (Chanda dan Dave, 2009).

2.5.6. Metode Kekuatan Pereduksi

Metode ini didasarkan pada prinsip peningkatan absorbansi dari reaksi kimia. Peningkatan absorbansi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Pada metode ini senyawa antioksidan membentuk kompleks berwarna dengan kalium ferisiania,

trichloro acetic acid dan besi klorida, yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Meningkatnya absorbansi dari reaksi campuran menunjukkan pengurangan kekuatan sampel (Chanda dan Dave, 2009).

2.5.7. Aktivitas Penghambatan Radikal Superoksida

Aktivitas peredaman radikal superoksida secara *in vitro* diukur dengan reduksi dari riboflavin/cahaya/NBT (Nitro biru tetrazolium). Metode ini didasarkan pada pembentukan radikal superoksida secara autooksidasi dari riboflavin dengan adanya cahaya. Radikal superoksida mereduksi NBT menjadi formazon berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 550 nm. Kapasitas ekstrak atau sampel untuk menghambat warna sampai 50% dinyatakan dalam nilai IC_{50} (Antolovich *et al.*, 2001; Chanda dan Dave, 2009).

2.5.8. Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil

Kapasitas penghambatan radikal hidroksil ekstrak atau sampel secara langsung berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Metode ini melibatkan pembentukan secara *in vitro* dari radikal hidroksil ($OH\bullet$) dari pereaksi Fenton yang direaksikan dengan Fe^{3+} , askorbat, EDTA, dan H_2O_2 . Pada salah satu metode radikal hidroksil, radikal hidroksil yang terbentuk secara oksidasi dibuat untuk bereaksi dengan DMSO (*dimethyl sulphoxide*) untuk menghasilkan formaldehida. Formaldehida yang terbentuk menghasilkan warna kuning yang intens dengan reagen Nash (amonium asetat 2 M dengan asam asetat 0,05 M dan aseton asetil 0,02 M dalam aquadest). Intensitas warna kuning yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 412 nm dengan spektrofotometri terhadap blanko negatif. Aktivitas ini dinyatakan sebagai % penghambatan radikal hidroksil (Chanda dan Dave, 2009).

2.5.9. Aktivitas Penghambatan Radikal Oksida Nitrat

Oksida nitrat memiliki elektron yang tidak berpasangan, sehingga diklasifikasikan sebagai radikal bebas dan menunjukkan reaktivitas yang penting dengan jenis tertentu dari protein dan radikal bebas lainnya. Penghambatan secara *in vitro* dari radikal oksida nitrat juga diukur sebagai aktivitas antioksidan. Metode ini didasarkan pada inhibisi dari pembentukan radikal oksida nitrat yang dihasilkan dari natrium nitroprusid dalam dapar garam dan diukur dengan pereaksi Griess. Dengan adanya penghambatan, absorbansi dari kromofor diukur pada panjang gelombang 546 nm. Aktivitas ini ditunjukkan sebagai % reduksi dari oksida nitrat (Chanda dan Dave, 2009).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – Juni 2017 yang bertempat di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biologi, dan Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian *experimental laboratories*.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis teh yang digunakan.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan serta kadar flavonoid dan fenol total sampel ekstrak air teh.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara ekstraksi bahan, cara skrining fitokimia, cara pengujian aktivitas antioksidan, serta cara penetapan kadar fenol dan flavonoid total.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis *Double Beam* (Labomed, Inc), *freeze drier* (ZiRBUS VaCo 5-II-D), *ultrasonic*

cleaner (Elma), mikropipet (Socorex), *vortex*, penangas air, vakum, corong, *ball filler*, timbangan analitik (Ohaus), *stopwatch*, dan seperangkat alat gelas (Pyrex).

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah produk teh hijau, teh hitam, dan teh oolong (PT. Perkebunan Nusantara XII) dari Kabupaten Jember, akuades, Pb asetat, HCl 2N, NaCl, asam asetat glacial, FeCl₃, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrida, kloroform, DPPH (Sigma-Aldrich), metanol, vitamin C, NaNO₂ 5% (Merck), AlCl₃ 10% (Merck), NaOH 5%, NaOH 1M (PT. Brataco), standar kuersetin (Sigma-Aldrich), standar asam galat (Sigma-Aldrich), pereaksi Folin- Ciocalteu 50%, Na₂CO₃ 7,5% (Merck), kertas saring, aluminium foil, kuvet plastik.

3.5 Ekstraksi Teh

Ekstrak air dibuat dengan metode infusa, yaitu dengan cara merendam sebanyak 100 gram teh hijau, teh hitam, dan teh oolong kering dalam 1000 mL air dengan suhu 90°C. Setelah 15 menit, filtrat disaring menggunakan vakum dan dibuat ekstrak kering dengan menggunakan *freeze drier* dengan suhu -88°C selama 39 jam (Holidah dan Christianty, 2015).

3.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak teh mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Tariq dan Reyaz (2012).

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,3 gram ekstrak air dilarutkan dalam 2mL akuades lalu ditambahkan dengan 1mL larutan timbal asetat dan adanya flavonoid ditandai dengan munculnya endapan warna putih.

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,3 gram ekstrak air ditambah HCl 2N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin, campuran disaring dan ditambah beberapa tetes larutan NaOH 5%. Adanya alkaloid ditandai dengan perubahan larutan menjadi keruh atau munculnya endapan kuning.

c. Uji Glikosida

Sebanyak 0,3 gram ekstrak air dilarutkan dalam 2 mL asam asetat glasial dan dicampur sampai homogen. Ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 dan H_2SO_4 pekat. Adanya glikosida ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi coklat kemerahan.

d. Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,3 gram ekstrak air ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida dan 0,5 mL kloroform. Kemudian larutan H_2SO_4 pekat ditambahkan perlahan-lahan dan adanya terpenoid ditandai dengan perubahan warna menjadi warna merah violet sedangkan adanya steroid ditandai dengan warna hijau kebiruan.

e. Uji Tanin

Sebanyak 0,3 gram ekstrak air dilarutkan dalam 1 mL air, dicampur merata dan kemudian 2 tetes larutan FeCl_3 ditambahkan. Adanya tanin galat ditandai dengan warna biru sedangkan adanya tanin *catecholic* ditandai dengan warna hitam hijau.

f. Uji Saponin

Sebanyak 0,3 gram ekstrak air dilarutkan dengan 5 mL akuades dan adanya saponin ditunjukkan dengan adanya buih yang stabil.

3.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total

3.7.1 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan

dengan metanol p.a sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji ekstrak air 1000 $\mu\text{g/mL}$.

3.7.2 Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Standar kuersetin ditimbang sebanyak 25 mg (2 kali), dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan 25 mL serta dilarutkan dengan metanol p.a sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk standar kuersetin yaitu 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan 2500 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan uji induk dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol p.a sejumlah tertentu sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar kuersetin akhir yaitu 10 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, dan 200 $\mu\text{g/mL}$. Perhitungan seri konsentrasi larutan standar kuersetin dapat dilihat pada Lampiran 4.2.1.

3.7.3 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Kuersetin

Sebelum penetapan kadar flavonoid total, dilakukan terlebih dahulu penentuan panjang gelombang serapan maksimum kuersetin dengan reagen AlCl_3 10%. Larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan 300 μL NaNO_2 5% diamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan 300 μL AlCl_3 10% kemudian diamkan selama 6 menit, lalu ditambahkan 2 mL NaOH 1 M dan akuades ke dalam campuran reaksi sampai tanda batas labu 10 mL (Odumosu *et al.*, 2015). Diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

3.7.4 Penetapan Kadar

Total kandungan flavonoid ditentukan dengan metode AlCl_3 . Sebanyak 150 μL larutan uji ekstrak air (1000 $\mu\text{g/mL}$) dimasukkan ke dalam kuvet 1,5 mL, ditambahkan 45 μL NaNO_2 5% diamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Setelah

itu, ditambahkan 45 μL AlCl_3 10% kemudian diamkan selama 6 menit, lalu ditambahkan 300 μL NaOH 1 M dan 960 μL akuades ke dalam campuran reaksi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang optimumnya yaitu 532 nm.

3.7.5 Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak air dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar kuersetin sehingga diperoleh kadar flavonoid total yang ditunjukkan dengan miligram kuersetin ekuivalen per gram ekstrak (mgQE/g ekstrak).

3.8 Penetapan Kadar Fenol Total

3.8.1 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg. Selanjutnya ekstrak air dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji ekstrak air 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kemudian diencerkan dengan cara mengambil 2 mL larutan uji ekstrak air 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan metanol p.a sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji ekstrak air 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.8.2 Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 10 mg dan 20 mg, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk standar asam galat yaitu 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah 1 mL larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda sehingga diperoleh

konsentrasi larutan standar asam galat 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 200 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dibuat rentang konsentrasi larutan asam galat akhir yaitu 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, dan 15 $\mu\text{g/mL}$. Perhitungan seri konsentrasi larutan standar asam galat dapat dilihat pada Lampiran 4.5.1.

3.8.3 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat dan Waktu Inkubasi

Sebelum penetapan kadar fenol total, dilakukan terlebih dahulu penentuan panjang gelombang serapan maksimum asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu. Larutan standar asam galat dengan konsentrasi 8 $\mu\text{g/mL}$ ditambah dengan 750 μL reagen Folin-Ciocalteu. Kemudian, ditambahkan 600 μL larutan Na_2CO_3 7,5% (Alfian dan Susanti, 2012). Diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

3.8.4 Penetapan Kadar

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan cara 150 μL dari masing-masing larutan uji ekstrak air dan larutan standar ditambah dengan 750 μL reagen Folin-Ciocalteu. Kemudian ditambahkan 600 μL Na_2CO_3 7,5% lalu diinkubasi pada suhu kamar selama waktu optimumnya yaitu 45 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum yaitu 760 nm.

3.8.5 Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak air dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga diperoleh kadar fenol total yang ditunjukkan dengan miligram asam galat ekuivalen per gram ekstrak (mgGAE/g ekstrak).

3.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

3.9.1 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong masing - masing ditimbang sejumlah 10 mg dan dilarutkan ke dalam metanol sampai 10 mL, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$, kemudian dibuat seri pengenceran dengan rentang 1-20 $\mu\text{g/mL}$.

3.9.2 Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C sebesar 1.000 $\mu\text{g/mL}$, kemudian dibuat seri pengenceran dengan rentang 1-10 $\mu\text{g/mL}$

3.9.3 Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang 1 mg, dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a sampai tanda batas, diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat (Krishnaiah,2011).

3.9.4 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebelum pengujian aktivitas antioksidan, dilakukan dulu penentuan panjang gelombang serapan maksimum yaitu dengan mengambil 1,2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Kemudian menambahkan 0,3 mL metanol p.a. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400–600 nm.

3.9.5 Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji ekstrak air teh direaksikan dengan larutan DPPH dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang optimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

3.9.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Air Teh dan Vitamin C

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara mereaksikan masing-masing larutan uji ekstrak air dan larutan vitamin C (seri konsentrasi) dengan larutan DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogen kemudian larutan uji dan larutan vitamin C diinkubasi pada suhu ruangan sesuai dengan optimasi waktu inkubasinya. Diukur serapannya pada panjang gelombang optimumnya.

3.9.7 Perhitungan

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel mengikuti persamaan 2.1.

$$\text{Inhibisi DPPH (\%)} = \frac{\text{Abs X} - \text{Abs Y}}{\text{Abs X}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1) \text{ (Odumosu et al., 2015)}$$

Keterangan :

Abs X = absorban serapan radikal DPPH kontrol pada panjang gelombang dengan absorbansi maksimum.

Abs Y = absorban serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang dengan absorbansi maksimum.

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan 3.1.

$$y = a + bx \dots\dots\dots(3.2) \text{ (Odumosu et al., 2015)}$$

Keterangan:

x = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

y = presentase inhibisi (%)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *inhibition concentration* 50 % atau IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50 %. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50. Dapat dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan 2.2

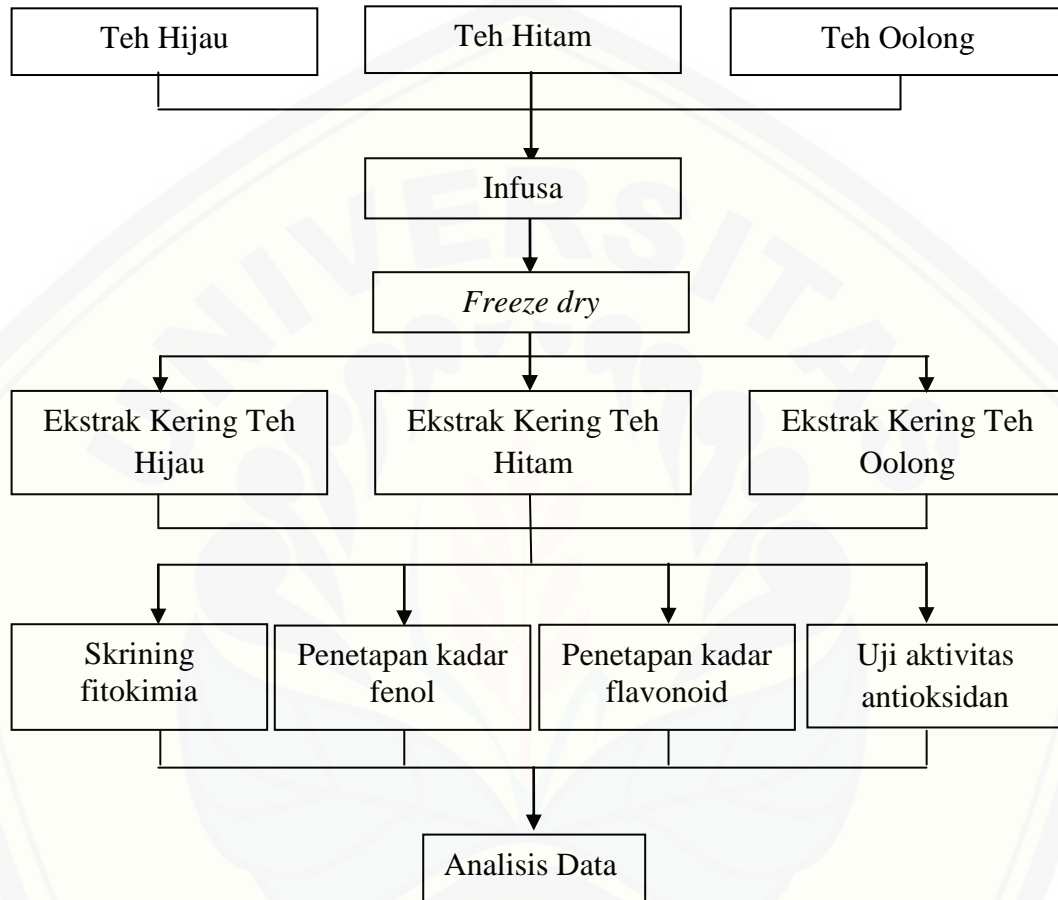
$$IC_{50} = \frac{(50-A)}{B} \dots\dots\dots(3.3) \text{ (Odumosu } et al., 2015)$$

3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antioksidan serta penetapan kadar fenol dan flavonoid total dibandingkan antara ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong. Selanjutnya jika data normal dan homogen maka dianalisis dengan *one way ANOVA* dan jika data signifikan maka dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap bermakna apabila $p\text{-value} \leq 0,01$ dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%.

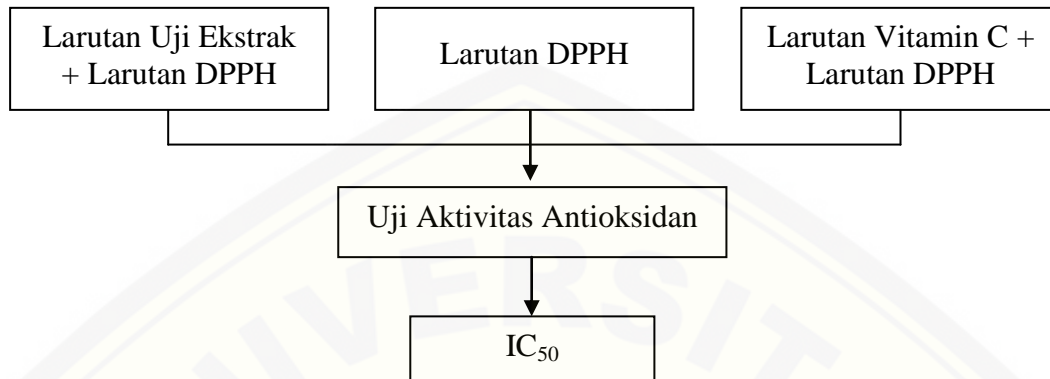
3.11 Skema Kerja

3.11.1 Skema Kerja secara Umum



Gambar 3.1 Skema kerja secara umum

3.11.2 Skema Uji Aktivitas Antioksidan



Gambar 3.2 Skema uji aktivitas antioksidan

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak air teh hijau, teh hitam, dan teh oolong adalah flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin *catecholic*.
2. Kadar flavonoid dan fenol total tertinggi terkandung dalam ekstrak air teh hijau, diikuti oleh teh oolong, dan yang terendah adalah teh hitam serta terdapat perbedaan kadar flavonoid dan fenol total yang signifikan antara ketiga ekstrak air teh tersebut.
3. Nilai IC_{50} terendah dimiliki oleh teh hijau, diikuti oleh teh oolong, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar keduanya dan yang terakhir adalah teh hitam.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan skrining fitokimia dengan metode KLT untuk menegaskan kandungan golongan senyawa kimia dalam teh hijau, teh hitam, dan teh oolong.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan *in vivo* pada teh hijau, teh hitam, dan teh oolong yang memiliki potensi lebih besar untuk dikembangkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Attar, A.M. dan T.A. Zari. 2010. Influences of crude extract of tea leaves *Camellia sinensis* on streptozotocin diabetic male albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 17:295-301.
- Alfian, R. dan H. Susanti. 2012. Penetapan kadar fenolik total ekstrak methanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1):73-80
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV diterjemahkan oleh Ibrahim, F. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press.
- Antolovich, M., P.D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald dan K. Robards. 2001. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 127:183-198
- Azizah, D. N., E. Kumolowati dan F. Faramayuda. 2014. Penetapan kadar flavonoid metode AlCl₃ pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2):45-49
- Azwanida, N.N. 2015. Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. 4(3):1-6.
- Babu, P.V.A., K.E. Sabitha dan C.S. Shyamaladevi. 2006. Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Journal Chemico-Biological Interactions*. 162:114-120.
- Chanda, S. dan R. Dave. 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties : an overview. *African Journal of Microbiology Research*. 3(13):981-996
- Chang, K. 2015. *World Tea Production and Trade*. Rome: Food and Agriculture Organization.
- Chaturvedula, V. S. P. dan I. Prakash. 2011. The aroma, taste, color, and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(11):2110-2124.
- Crespy, V. dan G. Williamson. 2004. A review of the health effects of green tea catechins in vivo animal models. *Journal of Nutrition*. 134: 3431S–3440S.

- Dehpour, A. A., M. A. Ebrahimzadeh, N. S. Fazel dan N. S. Mohammad. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*, 60 (4) : 405-412.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Ed. IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dirjen POM RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Doughari, J.H. 2012. *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. Cina: Intech.
- Gomes, A., J.R. Vedasiromoni, M. Das, R.M. Sharma dan D.K. Ganguly. 1995. Anti-hiperglycemic effect of black tea (*Camellia sinensis*) in rat. *Journal of Ethnopharmacology*. 45:223-226.
- Gordon, M.H., 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. *Food Antioxidant*. London : Elsevier Applied Science.
- Gramza, A., K. Pawlak-Lemanska, J. Korczak, E. Sowicz, dan M. Rudzinska. 2005. Tea extract as free radical scavengers. *Polish J. Environ Studies*. 14(6):861-867
- Hamid, A. A., O. O. Aiyelaagbe, L. A. Usman, O. M. Ameen dan A. Lawal. 2010. Antioxidants : its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 4(8): 142-151.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Bandung: ITB.
- Hodgson, J.M. dan K.D. Croft. 2010. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, doi:10.1016/j.mam.2010.09.004
- Holidah, D. dan F.M. Christianty. 2015. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak teh hitam, teh oolong, dan teh hijau secara in vivo. *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinik*. 28 November 2015. UPT. Penerbitan Universitas Jember: 73-79
- Kalita, P., T. K. Barman, T. K. Pal, dan K. Ramen. 2013. Estimation of total flavonoids content (tfc) and antioxidant activities of methanolic whole plant

extract of *Biophytum sensitivum* Linn. *Journal of Drug Delivery and Therapeutic*. 3(4):33-37

Khoddami, A., M. Wilkes dan Robert, T. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 18: 2328-2375.

Krishnaiah, D., R. Sarbatly, dan R. Nithyanandam. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*. 89:217-233

Lone, A.A., S.A. Ganai, R.A. Ahanger, H.A. Bhat, T.A. Bhat dan I.A. Wani. 2013. Free radical and antioxidants: myths, facts and mysteries. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 7(3):91-113.

McDowell, L.R., N. Wilkinson, R. Madison dan T. Felix. 2007. Vitamins and minerals functioning as antioxidant with supplementation considerations. *Florida Ruminant Nutrition Symposium*.

Meydani, M. 2000. Effect of functional food ingredient : Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *American Journal Clinical Nutrition*. 71(6):1665S-1668S.

Minarno, E.B. 2015. Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid total pada buah *Carica pubescens* Lenne dan K. Koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. *El- Hayah*. 5(2):73-82

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*. 26(2):211-219.

Mukhtar, H. dan N. Ahmad. 2010. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71: 1698S-1702S.

Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*. 2:78-83

Odumosu, P., S. Ojerinde dan M. Egbuchiem. 2015. Polyphenolic contents of some instant tea brands and their anti-oxidant activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 5(9):100-105.

- Percival, M. 1996. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 31(1):1-4.
- Pointis, J.A., L.A.M. da Costa, S.J.R. da Silva, dan A. Flach. 2014. Color, phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Sci and Technology*. 34(1):69-73
- Prakash, A, F. Rigelhof dan E. Miller. 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratory Analytical Progress*. 19(2):1-6.
- Prior, R., X. Wu dan K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 53:4290-4302
- Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factor. *Clinical Interventions in Aging*. 2(2):219-236.
- Rappoport, Z. 2003. *The Chemistry of Phenols*. England : John Wiley and Sons.
- Redha, A. 2010. Flavonoid : struktur, sifat antioksidatif, dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Berlian*. 9(2):196-202.
- Rohdiana, D. 2015. Teh : proses, karakteristik, dan komponen fungsionalnya. *Food Review Indonesia*. 10 (8):34-37.
- Rowe, R.C., P.J. Sheskey, dan S.C. Owen. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 5th Ed*. Washington : Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association
- Satoh, E., N. Tohyama, dan M. Nishimura. 2005. Comparison of the antioxidant activity of roasted tea with green, oolong, and black teas. *International Journal of Food Nutritions*. 56(8):551-559
- SekJen Kementerian Pertanian. 2015. *Outlook Teh*. Jakarta: Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian.
- Setyamidjaja, D. 2000. *Teh Budidaya dan Pengolahan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Somantri, R. dan K. Tanti 2011. *Kisah dan Khasiat Teh*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

- Sudaryat, Y., M. Kusmiyati, C.R. Pelangi, A. Rustamsyah dan D. Rohdiana. 2015. Aktivitas antioksidan seduhan sepuluh jenis mutu teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Indonesia. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 2(18):95-100.
- Sur, P., T. Chaudhuri, J.R. Vedasiromoni, A. Gomes, dan D.K. Ganguly. 2001. Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) root extract. *Phytotherapy Research*. 15 : 174-176
- Syah, A. N. A. 2006. *Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. Depok : PT. Agromedia Pustaka.
- Tariq, A. L. dan A. L. Reyaz. 2012. Phytochemical analysis of *Camellia sinensis* leaves. *International Journal of Drug Development and Research*. 4(4):311-316
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, dan H. Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction : a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1(1):98-106
- Towaha, J. 2013. Kandungan senyawa kimia pada daun teh (*Camellia sinensis*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Industri*. 19(3):12-16.
- Tursiman, P. Ardiningsih dan R. Nofiani. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1):45-48.
- USDA Plant Profil. 2017. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze tea. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CASI16>. [diakses tanggal 27 Maret 2017].
- Veljković, J. N., A.N. Pavlovic, S.S. Mitic, S.B. Tosic, G.S. Stojanovic, B.M. Kalicanin, D.M. Stankovic, M.B. Stojkovic, M.N. Mitic dan J.M. Brčanovic. 2013. Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches. *Journal of Food and Nutrition Research*. 52(1):12–24.
- Venkatesh, R. dan D. Sood. 2011. *A Review of The Physiological Implications of Antioxidants in Food*. https://www.researchgate.net/publication/265081601_A_Review_of_The_Physiological_Implications_of_Antioxidants_in_Food. [diakses tanggal 15 Juni 2017].
- Vermerris, W. dan R. Nicholson. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.

- Widowati, W., T. Herlina, H. Ratnawati, T. Mozef dan V. Immanuel. 2011. Potency of antioxidant, anticholesterol and platelet antiagregation of black tea (*Camellia sinensis*). *Bul. Littro*. 22(1):74-83.
- Widowati, W., T. Herlina, H. Ratnawati, G. Constantia, I.D.G.S. Deva, dan M. Maesaroh. 2015. Antioxidant potential of black, green, and oolong tea methanol extracts. *Biolog, Medicine, and Natural Product Chemistry*. 4(2):38-43
- Widyasanti, A., D. Rohdiana dan N. Ekatama. 2016. Aktivitas antioksidan ekstrak teh putih (*Camellia Sinensis*) dengan metode DPPH (2,2 Difenil -1- Pikrilhidrazil). *FORTECH*. 1(1):3-9.
- Wijaya A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. *Forum Diagnosticum. Laboratorium Klinik Prodia*. 1:1-12.
- Yang, J dan R.H. Liu. 2012. The phenolic and antioxidant activity in different types of tea. *International Journal of Food Science and Technology*. 1-9

Lampiran 4.1 Perhitungan % Rendemen

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen Teh Hijau} = \frac{18,25 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 18,25\%$$

$$\% \text{ Rendemen Teh Hitam} = \frac{22,10 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 22,10\%$$

$$\% \text{ Rendemen Teh Oolong} = \frac{17,09 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 17,09\%$$

Lampiran 4.2 Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Flavonoid Total**4.2.1. Larutan Standar Kuersetin**

$$\text{Larutan induk 1} = \frac{25,0 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Larutan induk 2} = \frac{25,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 2530 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\text{a) } \frac{0,1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 10 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2530 \mu\text{g/mL} = 25,3 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2530 \mu\text{g/mL} = 50,6 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 100 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 200 \mu\text{g/mL}$$

4.2.2. Larutan Ekstrak Air Teh Hijau

$$\text{Replikasi 1} = \frac{10,0 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1020 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{10,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1010 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

4.2.3. Larutan Ekstrak Air Teh Hitam

$$\text{Replikasi 1} = \frac{10,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1020 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{10,6 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

4.2.4. Larutan Ekstrak Air Teh Oolong

$$\text{Replikasi 1} = \frac{10,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{10,6 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{10,7 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1070 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

4.2.5. Larutan NaNO₂ 5%

$$\frac{5 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{500 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Ditimbang 500 mg NaNO₂ kemudian dilarutkan dalam akuades ad 10 mL

4.2.6. Larutan AlCl₃ 10%

$$\frac{10 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{1 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

Ditimbang 1 g AlCl₃ kemudian dilarutkan dalam akuades ad 10 mL

4.2.7. Larutan NaOH 1M

$$M = \frac{\text{bobot}}{\text{MR}} \times \frac{1000}{\text{volume}}$$

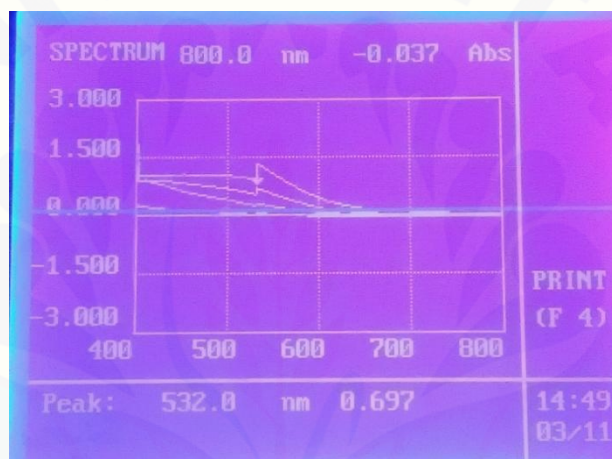
$$1 \text{ M} = \frac{\text{bobot}}{40} \times \frac{1000}{100}$$

$$\text{Bobot} = 4 \text{ g}$$

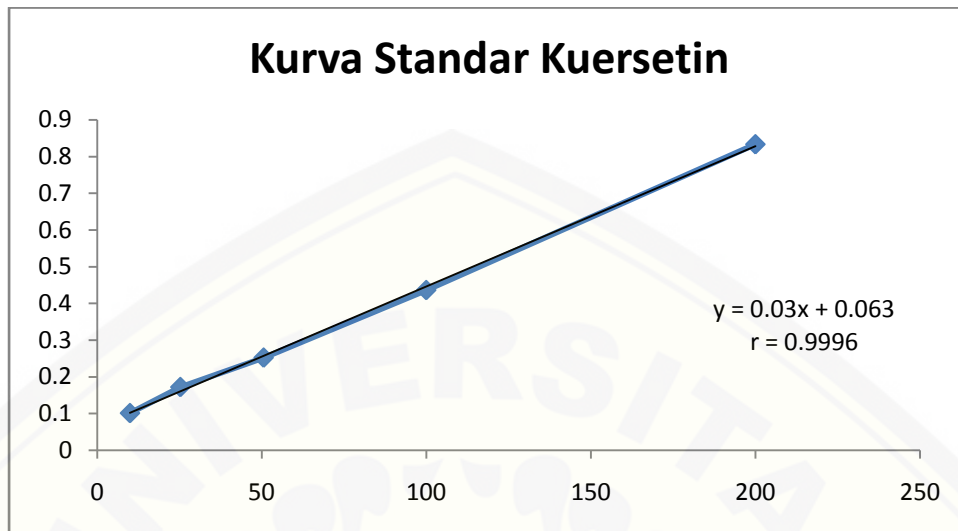
Ditimbang 4 g NaOH kemudian dilarutkan dalam akuades ad 100 mL

Lampiran 4.3 Penentuan Panjang Gelombang

Work Mode : Abs
 Scan Speed : Fast
 Interval : 2,0
 WL Range : 800,0 – 400,0
 Range : -3,00 – 3,00
 Lamp Source : D2 Lamp
 Peak : 532,0 nm

**Lampiran 4.4 Perhitungan Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total**

Sampel	Penimbangan (gram)	Kadar Flavonoid Total mgQE/g	Rata-Rata Kadar	SD	RSD (%)
Teh Hijau	0,0100	68,666	67,991	0,831	1,223
	0,0102	67,063			
	0,0101	68,246			
	0,0104	16,633			
Teh Hitam	0,0102	16,702	17,128	0,799	4,664
	0,0106	18,050			
	0,0104	32,761			
	0,0106	33,873			
Teh Oolong	0,0106	33,873	33,234	0,575	1,729
	0,0107	33,067			



Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
10,0	0,101
25,3	0,172
50,6	0,252
100	0,436
200	0,833

$$Y = 0,038156 x - 0,064998$$

$$r = 0,9996$$

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi	Massa dalam 1,5mL (μg)	Massa dalam 10mL (μg)	Kadar Flavonoid Total mgQE/g
Teh Hijau	0,327	6,867	10,300	0,687	68,666
	0,326	6,840	10,261	0,684	67,063
	0,328	6,893	10,339	0,689	68,246
Teh Hitam	0,131	1,730	2,595	0,173	16,633
	0,13	1,704	2,555	0,170	16,702
	0,138	1,913	2,870	0,191	18,050
Teh Oolong	0,195	3,407	5,111	0,341	32,761
	0,202	3,591	5,386	0,359	33,873
	0,200	3,538	5,307	0,354	33,067

Lampiran 4.5 Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Fenol Total

4.5.1. Larutan Standar Asam Galat

$$\text{Larutan induk 1} = \frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1004 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Larutan induk 2} = \frac{50,1 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1002 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1004 \mu\text{g/mL} = 502 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1002 \mu\text{g/mL} = 200,4 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 502 \mu\text{g/mL} = 20,08 \mu\text{g/mL}$$

$$- \frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 20,08 \mu\text{g/mL} = 2,008 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,4 \mu\text{g/mL} = 20,04 \mu\text{g/mL}$$

$$- \frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 20,04 \mu\text{g/mL} = 4,008 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,4 \mu\text{g/mL} = 80,16 \mu\text{g/mL}$$

$$- \frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 80,16 \mu\text{g/mL} = 8,016 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 502 \mu\text{g/mL} = 100,4 \mu\text{g/mL}$$

$$- \frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 100,4 \mu\text{g/mL} = 10,04 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 502 \mu\text{g/mL} = 150,6 \mu\text{g/mL}$$

$$- \frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 150,6 \mu\text{g/mL} = 15,06 \mu\text{g/mL}$$

4.5.2. Larutan Ekstrak Air Teh Hijau

$$\text{Replikasi 1} = \frac{10,5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1050 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{10,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{10,5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1050 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

4.5.3. Larutan Ekstrak Air Teh Hitam

$$\text{Replikasi 1} = \frac{10,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1020 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{10,6 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

4.5.4. Larutan Ekstrak Air Teh Oolong

$$\text{Replikasi 1} = \frac{10,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{10,6 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{10,7 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1070 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

4.5.5. Larutan Na₂CO₃ 7,5%

$$\frac{7,5 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{750 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Ditimbang 750 mg Na₂CO₃ kemudian dilarutkan dalam akuades ad 10 mL

Lampiran 4.6 Penentuan Panjang Gelombang

Work Mode : Abs

Scan Speed : Fast

Interval : 2,0

WL Range : 800,0 – 400,0

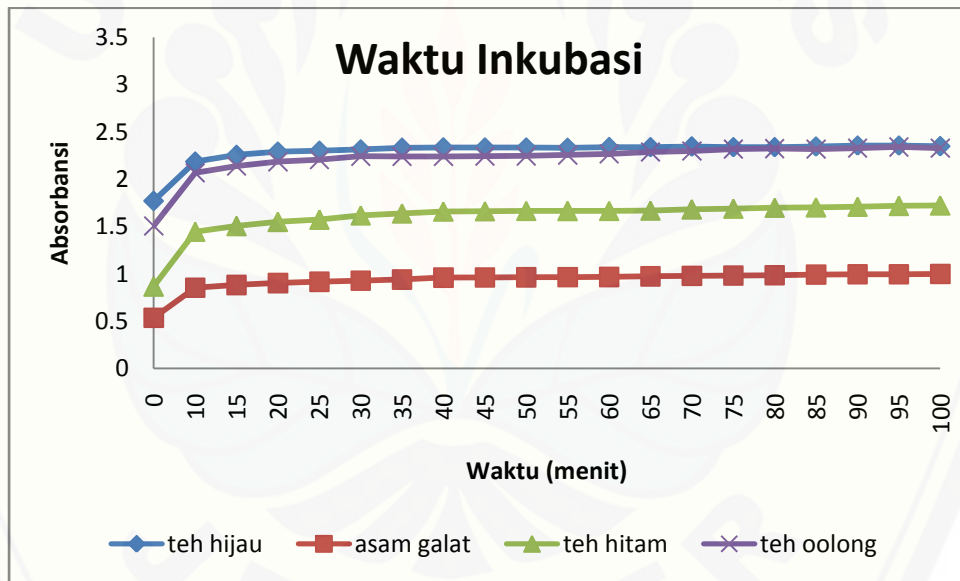
Range : -3,00 – 3,00

Lamp Source : D2 Lamp

Peak : 760,0 nm



Lampiran 4.7 Penentuan Waktu Inkubasi

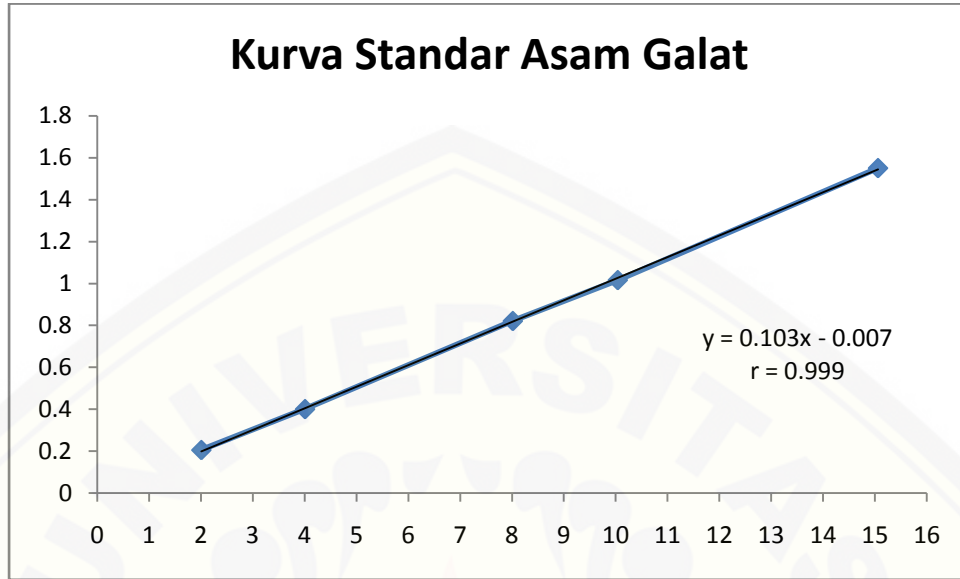


Menit Ke-	Absorbansi			
	Asam Galat	Teh Hijau	Teh Hitam	Teh Oolong
0	0,534	1,768	0,865	1,505
10	0,853	2,186	1,444	2,068
15	0,882	2,258	1,504	2,138
20	0,902	2,291	1,548	2,184
25	0,915	2,301	1,572	2,206
30	0,927	2,314	1,618	2,242
35	0,939	2,33	1,638	2,24

40	0,959	2,333	1,659	2,241
45	0,961	2,335	1,661	2,243
50	0,963	2,335	1,664	2,245
55	0,964	2,331	1,663	2,255
60	0,966	2,337	1,666	2,268
65	0,973	2,339	1,668	2,287
70	0,977	2,343	1,68	2,298
75	0,981	2,338	1,688	2,317
80	0,985	2,339	1,698	2,323
85	0,991	2,346	1,702	2,318
90	0,994	2,355	1,708	2,329
95	0,996	2,356	1,717	2,34
100	0,998	2,347	1,723	2,328

Lampiran 4.8 Perhitungan Hasil Penetapan Kadar Fenol Total

Sampel	Penimbangan (gram)	Kadar Fenol Total (mgGAE/g)	Rata-Rata	SD	RSD (%)
Teh Hijau	0,0105	386,200	386,495	2,345	0,607
	0,0104	384,312			
	0,0105	388,974			
Teh Hitam	0,0104	237,281	241,679	5,033	2,083
	0,0102	247,168			
	0,0106	240,589			
Teh Oolong	0,0104	270,888	270,905	0,816	0,301
	0,0106	271,730			
	0,0107	270,098			



Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi
2,008	0,206
4,008	0,401
8,016	0,821
10,04	1,016
15,06	1,550

$$Y = 0,103x - 0,00735$$

$$r = 0,9999$$

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi	Massa dalam 1,5mL (µg)	Massa dalam 10mL (µg)	Massa dalam 10mL (µg)	Kadar Fenol Total mgGAE/g
Teh Hijau	0,828	8,110	12,165	811,019	4,055	386,200
	0,816	7,994	11,991	799,369	3,997	384,312
	0,834	8,168	12,253	816,845	4,084	388,974
Teh Hitam	0,501	4,935	7,403	493,544	2,468	237,281
	0,512	5,042	7,563	504,223	2,521	247,168
	0,518	5,100	7,651	510,049	2,550	240,589
Teh Oolong	0,573	5,634	8,452	563,447	2,817	270,888
	0,586	5,761	8,641	576,068	2,880	271,730
	0,588	5,780	8,670	578,010	2,890	270,098

Lampiran 4.9 Perhitungan Bahan Pengujian Aktivitas Antioksidan

4.9.1. Pembuatan Larutan DPPH

Konsentrasi Larutan DPPH 40 μ g/mL (Krishnaiah,2011)

MR DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) = 394,33 (Molyneux, 2004)

0,1 mM = 0,0001 M

$$= 0,0001 \text{ mol/L}$$

$$= \frac{0,0001 \frac{\text{g}}{\text{MR}}}{\text{L}}$$

$$= \frac{0,0001 \frac{\text{g}}{\text{MR}} \times 394,33}{\text{L}}$$

$$= 0,039433 \frac{\text{g}}{\text{L}}$$

$$= 39,433 \text{ mg/L}$$

$$= 39,433 \mu\text{g/mL} (40\mu\text{g/mL})$$

$$2 \text{ mg DPPH dilarutkan dalam } 50 \text{ mL methanol} = \frac{2 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}}$$

4.9.2. Pembuatan Larutan Vitamin C (Kontrol Positif)

Replikasi 1

$$\text{Larutan induk} \frac{10,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1030 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1030 \mu\text{g/mL} = 206 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1030 \mu\text{g/mL} = 515 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,25 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 206 \mu\text{g/mL} = 5,15 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 206 \mu\text{g/mL} = 10,3 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 515 \mu\text{g/mL} = 15,45 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 206 \mu\text{g/mL} = 20,6 \mu\text{g/mL}$$

$$e) \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 515 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25,75 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

$$\text{Larutan induk } \frac{10,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1010 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1010 \text{ } \mu\text{g/mL} = 202 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1010 \text{ } \mu\text{g/mL} = 505 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$a) \frac{0,25 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 202 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,05 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$b) \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 202 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,1 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$c) \frac{0,3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 505 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,15 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$d) \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 202 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$e) \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 505 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25,25 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

$$\text{Larutan induk } \frac{10,0 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$a) \frac{0,25 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$b) \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$c) \frac{0,3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$d) \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$e) \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.9.3. Pembuatan Larutan Teh Hijau

Replikasi 1

$$\text{Larutan induk} \frac{10,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1030 \text{ } \mu\text{g/mL} = 206 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1030 \text{ } \mu\text{g/mL} = 412 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,125 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 206 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,15 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,375 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 412 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,45 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 412 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30,9 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 412 \text{ } \mu\text{g/mL} = 41,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 206 \text{ } \mu\text{g/mL} = 61,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

$$\text{Larutan induk} \frac{10,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1010 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1010 \text{ } \mu\text{g/mL} = 202 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1010 \text{ } \mu\text{g/mL} = 404 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,125 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 202 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,05 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,375 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 404 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,15 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 404 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30,3 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 404 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 202 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

$$\text{Larutan induk} \frac{10,0 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 200 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 400 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,125 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \mu\text{g/mL} = 5,00 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,375 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \mu\text{g/mL} = 15,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \mu\text{g/mL} = 30,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \mu\text{g/mL} = 40,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \mu\text{g/mL} = 60,0 \mu\text{g/mL}$$

4.9.4. Pembuatan Larutan Teh Hitam

Replikasi 1 dan 3

$$\text{Larutan induk} \frac{10,0 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 200 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 400 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,625 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \mu\text{g/mL} = 25,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \mu\text{g/mL} = 40,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \mu\text{g/mL} = 60,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \mu\text{g/mL} = 80,0 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \mu\text{g/mL} = 100 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

$$\text{Larutan induk} \frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1020 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 204 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 408 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,625 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 408 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25,5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 408 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 204 \text{ } \mu\text{g/mL} = 61,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 408 \text{ } \mu\text{g/mL} = 81,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 204 \text{ } \mu\text{g/mL} = 102 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.9.5. Pembuatan Larutan Teh Oolong

Replikasi 1

$$\text{Larutan induk} \frac{10,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1020 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 204 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 408 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 204 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,375 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 408 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,3 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 408 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 408 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 204 \text{ } \mu\text{g/mL} = 61,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

$$\text{Larutan induk } \frac{10,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1040 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1040 \text{ } \mu\text{g/mL} = 208 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1040 \text{ } \mu\text{g/mL} = 416 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 208 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,375 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 416 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 416 \text{ } \mu\text{g/mL} = 31,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 416 \text{ } \mu\text{g/mL} = 41,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 208 \text{ } \mu\text{g/mL} = 62,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

$$\text{Larutan induk } \frac{10,5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 1050 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1050 \text{ } \mu\text{g/mL} = 210 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1050 \text{ } \mu\text{g/mL} = 420 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{a) } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 210 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,375 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 420 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15,75 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 420 \text{ } \mu\text{g/mL} = 31,5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 420 \text{ } \mu\text{g/mL} = 42,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 210 \text{ } \mu\text{g/mL} = 63,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 4.10 Pengujian Peredaman Radikal Bebas

Larutan kontrol positif dan uji 0,3 ml ditambahkan larutan DPPH ad 1,5 ml

4.10.1. Larutan Vitamin C (Kontrol Positif)

Replikasi 1

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 5,15 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1,03 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 10,3 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,06 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,45 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,09 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 20,6 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 25,75 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,15 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Replikasi 2

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 5,05 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1,01 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 10,1 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,02 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,15 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,03 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 20,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4,04 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 25,25 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,05 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Replikasi 3

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 5,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 10,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 20,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 25,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

4.10.2. Larutan Teh Hijau

Replikasi 1

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 5,15 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1,03 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,45 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,09 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 30,9 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,18 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 41,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 61,8 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,36 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Replikasi 2

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 5,05 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1,01 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,15 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,03 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 30,3 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,06 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 40,4 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,08 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 60,6 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Replikasi 3

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 5,00 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 30,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 40,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 60,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$

4.10.3. Larutan Teh Hitam

Replikasi 1 dan 3

$$\text{a) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 25,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 40,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,00 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 60,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 80,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 16,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

$$\text{a) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 25,5 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5,10 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 40,8 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,16 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 61,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 81,6 \text{ } \mu\text{g/mL} = 16,32 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.10.4. Larutan Teh Oolong

Replikasi 1

$$\text{a) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 10,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,04 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,3 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,06 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 30,6 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 40,8 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,16 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 61,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 10,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,08 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,6 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 31,2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 41,6 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,32 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 62,4 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,48 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Replikasi 3

a) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 10,5 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,10 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 15,75 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,15 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 31,5 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,30 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 42,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,40 \text{ } \mu\text{g/mL}$

e) $\frac{0,3 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 63,0 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Lampiran 4.11 Penentuan Panjang Gelombang Optimum DPPH

Work Mode : Abs

Scan Speed : Fast

Interval : 2,0

WL Range : 800,0 – 400,0

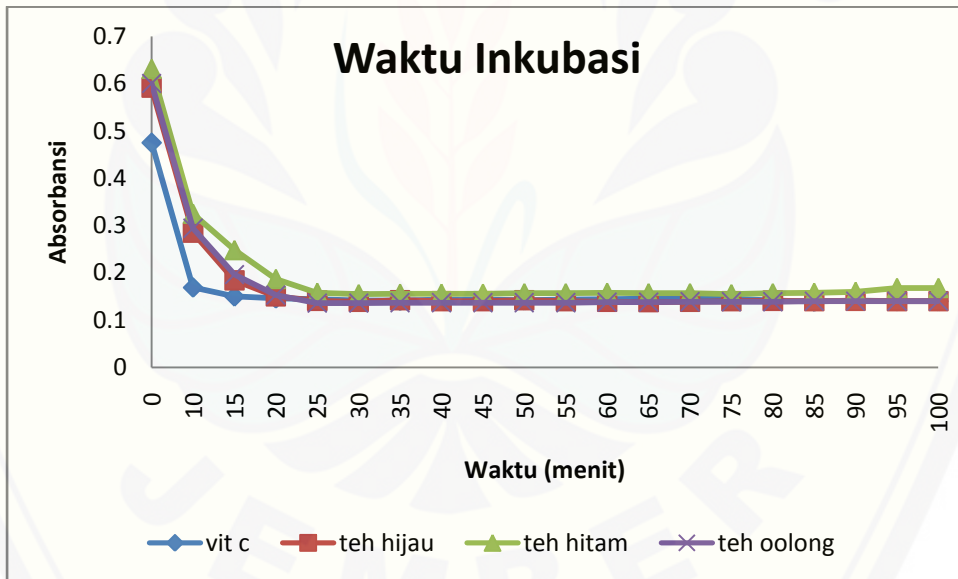
Range : -3,00 – 3,00

Lamp Source : D2 Lamp

Peak : 532,0 nm



Lampiral 4.12 Penentuan Waktu Inkubasi



Menit Ke-	Absorbansi			
	Vitamin C	Teh Hijau	Teh Hitam	Teh Oolong
0	0,475	0,591	0,631	0,600
10	0,169	0,285	0,325	0,294
15	0,150	0,184	0,248	0,196
20	0,146	0,150	0,187	0,153
25	0,144	0,141	0,158	0,136
30	0,141	0,139	0,155	0,136
35	0,141	0,142	0,156	0,137
40	0,143	0,140	0,156	0,137
45	0,143	0,140	0,156	0,137
50	0,142	0,142	0,157	0,137
55	0,143	0,140	0,157	0,137
60	0,144	0,139	0,158	0,138
65	0,145	0,138	0,157	0,138
70	0,146	0,139	0,157	0,139
75	0,145	0,140	0,155	0,139
80	0,141	0,141	0,157	0,139
85	0,139	0,140	0,158	0,140
90	0,141	0,141	0,160	0,140
95	0,140	0,140	0,168	0,140
100	0,140	0,140	0,168	0,140

Lampiran 4.13 Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{\text{Abs Kontrol (DPPH)} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol (DPPH)}} \times 100\%$$

Sampel	IC ₅₀	Rata-Rata IC ₅₀	SD	RSD (%)
Vitamin C	3,513	3,578	0,072	2,019
	3,566			
	3,655			
	4,853			
Teh Hijau	4,700	4,717	0,129	2,732
	4,597			
	6,033			
	6,583			
Teh Hitam	6,583	6,331	0,278	4,392
	6,379			

	4,998			
Teh Oolong	4,671	4,908	0,208	4,235
	5,056			

4.13.1. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀ Vitamin C

Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Peredaman
1,03	0,857	19,379
2,06	0,752	29,257
3,09	0,552	48,071
4,12	0,435	59,078
5,15	0,339	68,109

Absorbansi Kontrol = 1,063

Perhitungan Peredaman

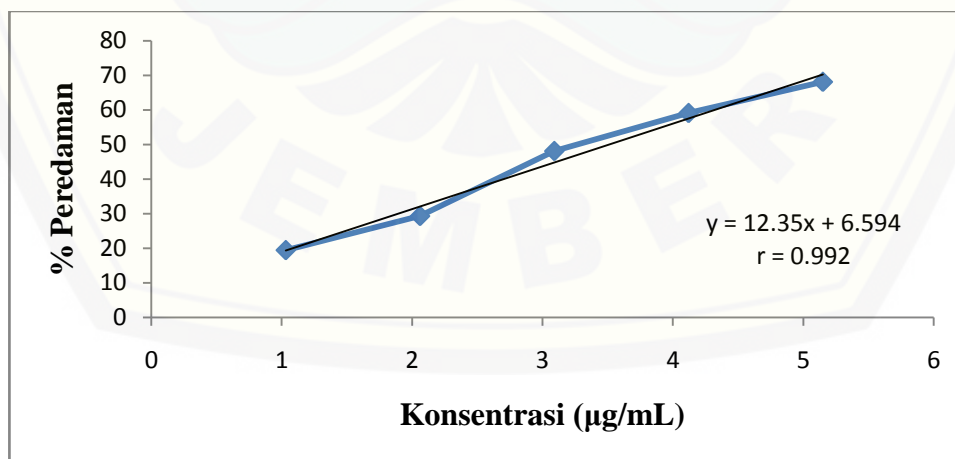
$$a) 1,03\mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,857}{1,063} \times 100\% = 19,379\%$$

$$b) 2,06\mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,752}{1,063} \times 100\% = 29,257\%$$

$$c) 3,09\mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,552}{1,063} \times 100\% = 48,071\%$$

$$d) 4,12\mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,435}{1,063} \times 100\% = 59,078\%$$

$$e) 5,15\mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,339}{1,063} \times 100\% = 68,109\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 12,357x + 6,595$$

$$x = \frac{50 - 6,595}{12,357}$$

$$x = 3,513$$

$$IC_{50} = 3,513 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	% Peredaman
1,01	0,859	19,191
2,02	0,763	28,222
3,03	0,572	46,190
4,04	0,445	58,137
5,05	0,365	65,663

Absorbansi Kontrol = 1,063

Perhitungan Peredaman

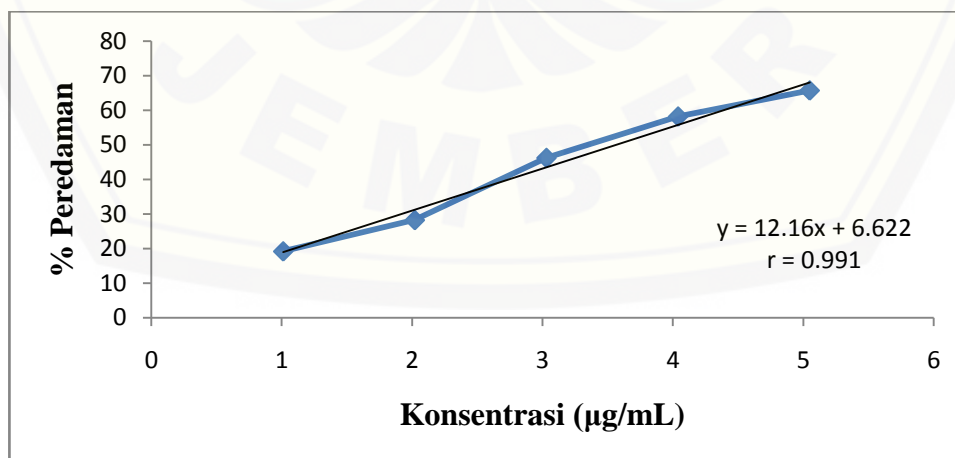
$$\text{a) } 1,01 \mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,859}{1,063} \times 100\% = 19,191\%$$

$$\text{b) } 2,02 \mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,763}{1,063} \times 100\% = 28,222\%$$

$$\text{c) } 3,03 \mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,572}{1,063} \times 100\% = 46,190\%$$

$$\text{d) } 4,04 \mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,445}{1,063} \times 100\% = 58,137\%$$

$$\text{e) } 5,05 \mu\text{g/mL} = \frac{1,063 - 0,365}{1,063} \times 100\% = 65,663\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 12,164x + 6,623$$

$$x = \frac{50-6,623}{12,164}$$

$$x = 3,566$$

$$\text{IC}_{50} = 3,566 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	%Peredaman
1,00	0,869	18,250
2,00	0,772	27,375
3,00	0,593	44,214
4,00	0,456	57,103
5,00	0,387	63,594

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 1,063$$

Perhitungan Peredaman

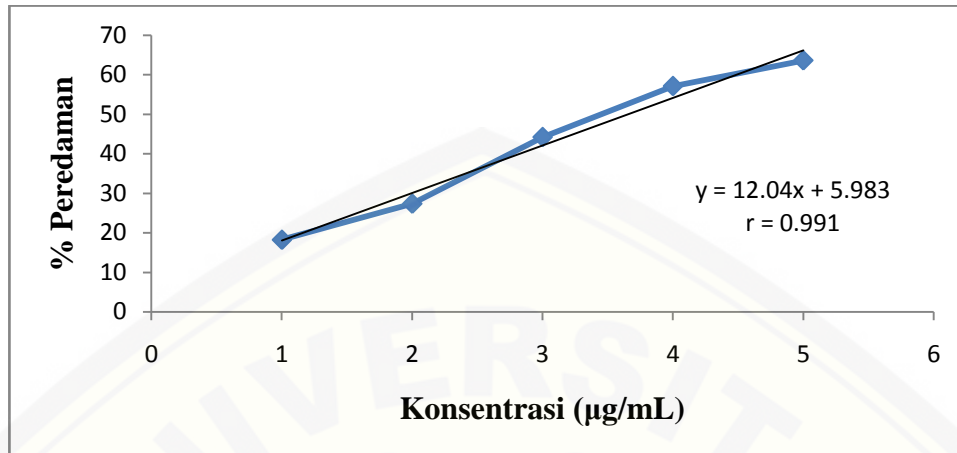
$$\text{a) } 1,00\mu\text{g/mL} = \frac{1,063-0,869}{1,063} \times 100\% = 18,250\%$$

$$\text{b) } 2,00\mu\text{g/mL} = \frac{1,063-0,772}{1,063} \times 100\% = 27,375\%$$

$$\text{c) } 3,00\mu\text{g/mL} = \frac{1,063-0,593}{1,063} \times 100\% = 44,214\%$$

$$\text{d) } 4,00\mu\text{g/mL} = \frac{1,063-0,456}{1,063} \times 100\% = 57,103\%$$

$$\text{e) } 5,00\mu\text{g/mL} = \frac{1,063-0,387}{1,063} \times 100\% = 63,594\%$$



Perhitungan IC_{50} : $50 = 12,041x + 5,983$

$$x = \frac{50 - 5,983}{12,041}$$

$$x = 3,655$$

$$IC_{50} = 3,655 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{3,513 + 3,566 + 3,655}{3} = 3,578$$

$$SD = 0,072$$

$$RSD (CV) = \frac{SD}{\text{Rata-rata}} \times 100\% = \frac{0,072}{3,578} \times 100\% = 2,019\%$$

4.13.2. Perhitungan % Peredaman dan IC_{50} Teh Hijau

Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Peredaman
1,03	0,690	28,866
3,09	0,565	41,753
6,18	0,405	58,247
8,24	0,296	69,485
12,36	0,152	84,330

Absorbansi Kontrol = 0,970

Perhitungan Peredaman

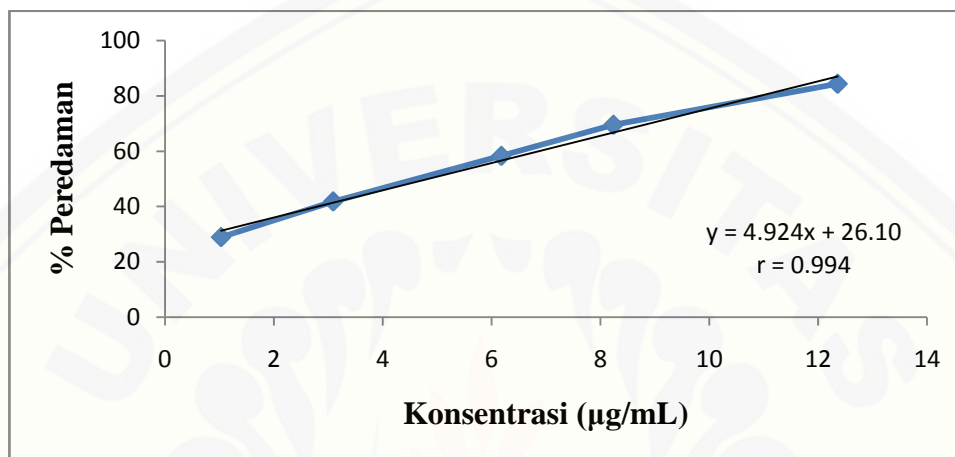
$$a) 1,03 \mu\text{g/mL} = \frac{0,970 - 0,690}{0,970} \times 100\% = 28,866\%$$

$$b) 3,09 \mu\text{g/mL} = \frac{0,970 - 0,565}{0,970} \times 100\% = 41,753\%$$

$$c) 6,18\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,405}{0,970} \times 100\% = 58,247\%$$

$$d) 8,24\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,298}{0,970} \times 100\% = 69,485\%$$

$$e) 12,36\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,152}{0,970} \times 100\% = 84,330\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 4,925x + 26,101$$

$$x = \frac{50-26,101}{4,925}$$

$$x = 4,853$$

$$\text{IC}_{50} = 4,853 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	%Peredaman
1,01	0,688	29,072
3,03	0,564	41,856
6,06	0,403	58,454
8,08	0,289	70,206
12,12	0,144	85,155

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,970$$

Perhitungan Peredaman

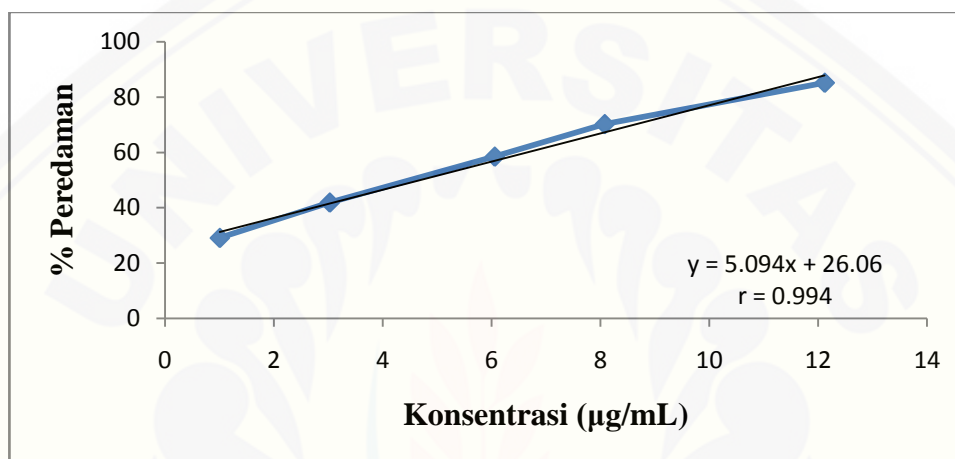
$$a) 1,01\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,688}{0,970} \times 100\% = 29,072\%$$

$$b) 3,03\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,564}{0,970} \times 100\% = 41,856\%$$

$$c) 6,06\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,403}{0,970} \times 100\% = 58,454\%$$

$$d) 8,08\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,289}{0,970} \times 100\% = 70,206\%$$

$$e) 12,12\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,144}{0,970} \times 100\% = 85,155\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 5,094x + 26,059$$

$$x = \frac{50-26,059}{5,094}$$

$$x = 4,700$$

$$\text{IC}_{50} = 4,700 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	% Peredaman
1,00	0,688	29,072
3,00	0,563	41,959
6,00	0,398	58,969
8,00	0,283	70,825
12,0	0,140	85,567

Absorbansi Kontrol = 0,970

Perhitungan Peredaman

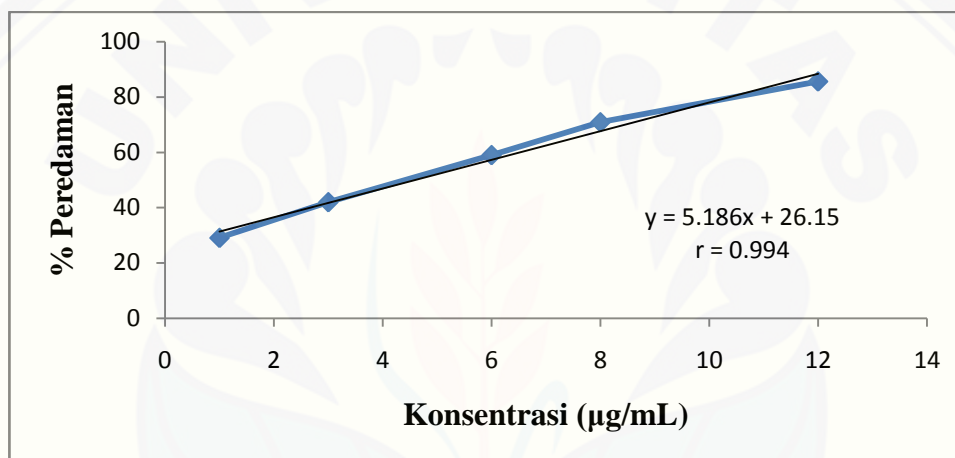
$$a) 1,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,688}{0,970} \times 100\% = 29,072\%$$

$$b) 3,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,563}{0,970} \times 100\% = 41,959\%$$

$$c) 6,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,398}{0,970} \times 100\% = 58,969\%$$

$$d) 8,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,283}{0,970} \times 100\% = 70,825\%$$

$$e) 12,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,970-0,140}{0,970} \times 100\% = 85,567\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 5,187x + 26,158$$

$$x = \frac{50-26,158}{5,187}$$

$$x = 4,597$$

$$\text{IC}_{50} = 4,597 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{4,853+4,700+4,597}{3} = 4,717$$

$$\text{SD} = 0,129$$

$$\text{RSD (CV)} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata}} \times 100\% = \frac{0,129}{4,717} \times 100\% = 2,732\%$$

4.13.3. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀ Teh Hitam

Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Peredaman
5,00	0,530	45,973
8,00	0,428	56,371
12,0	0,347	64,628
16,0	0,229	76,656
20,0	0,161	83,588

Absorbansi Kontrol = 0,981

Perhitungan Peredaman

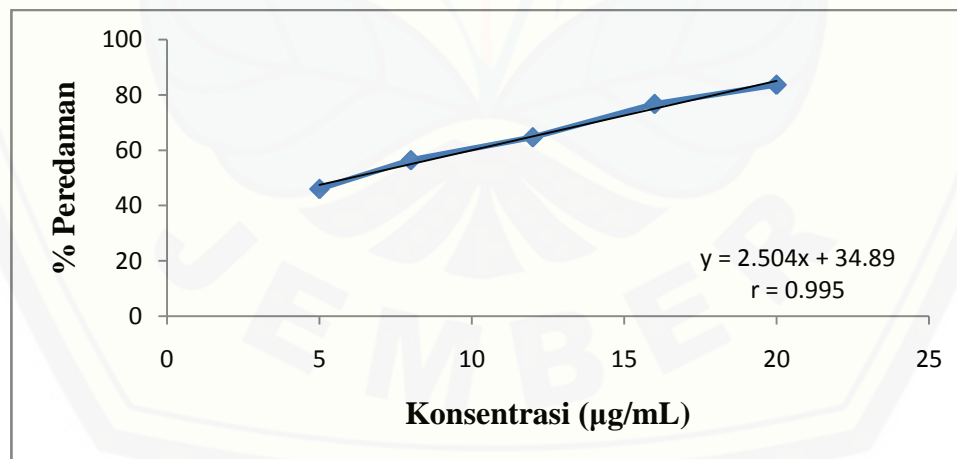
$$a) 5,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,530}{0,981} \times 100\% = 45,973\%$$

$$b) 8,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,428}{0,981} \times 100\% = 56,371\%$$

$$c) 12,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,347}{0,981} \times 100\% = 64,628\%$$

$$d) 16,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,229}{0,981} \times 100\% = 76,656\%$$

$$e) 20,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,161}{0,981} \times 100\% = 83,588\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 2,504x + 34,894$$

$$x = \frac{50-34,894}{2,504}$$

$$x = 6,033$$

$$IC_{50} = 6,033 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	% Peredaman
5,10	0,534	45,566
8,16	0,447	54,434
12,24	0,350	64,322
16,32	0,252	74,312
20,4	0,164	83,282

Absorbansi Kontrol = 0,981

Perhitungan Peredaman

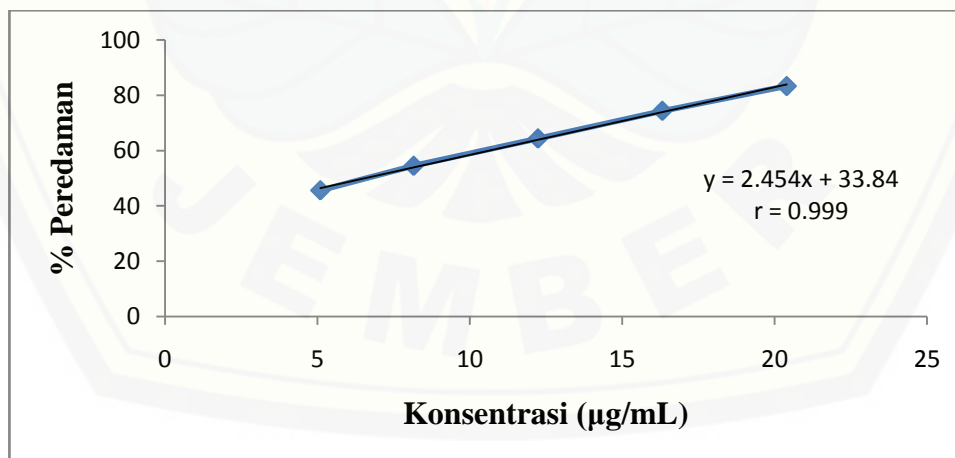
$$\text{a) } 5,10\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,534}{0,981} \times 100\% = 45,566\%$$

$$\text{b) } 8,16\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,447}{0,981} \times 100\% = 54,434\%$$

$$\text{c) } 12,24\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,350}{0,981} \times 100\% = 64,322\%$$

$$\text{d) } 16,32\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,252}{0,981} \times 100\% = 74,312\%$$

$$\text{e) } 20,4\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,164}{0,981} \times 100\% = 83,282\%$$



$$\text{Perhitungan } IC_{50} : 50 = 2,454x + 33,847$$

$$x = \frac{50-33,847}{2,454}$$

$$x = 6,583$$

$$IC_{50} = 6,583 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	%Peredaman
5	0,545	44,444
8	0,435	55,657
12	0,339	65,443
16	0,234	76,147
20	0,161	83,588

Absorbansi Kontrol = 0,981

Perhitungan Peredaman

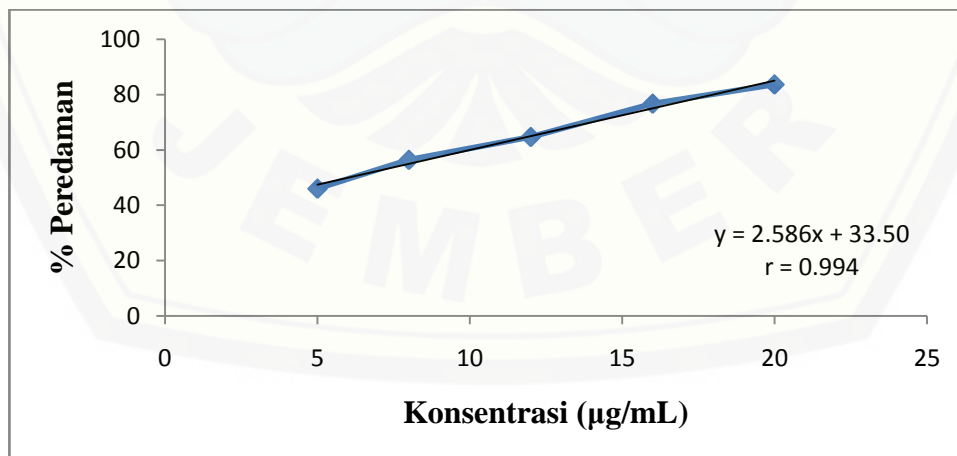
$$\text{a) } 5,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,545}{0,981} \times 100\% = 44,444\%$$

$$\text{b) } 8,00\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,435}{0,981} \times 100\% = 55,657\%$$

$$\text{c) } 12,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,339}{0,981} \times 100\% = 65,443\%$$

$$\text{d) } 16,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,254}{0,981} \times 100\% = 76,147\%$$

$$\text{e) } 20,0\mu\text{g/mL} = \frac{0,981-0,161}{0,981} \times 100\% = 83,588\%$$



$$\text{Perhitungan } IC_{50} : 50 = 2,586x + 33,503$$

$$x = \frac{50 - 33,503}{2,586}$$

$$x = 6,379$$

$$IC_{50} = 6,379 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{6,033 + 6,583 + 6,379}{3} = 6,331$$

$$SD = 0,278$$

$$RSD (CV) = \frac{SD}{\text{Rata-rata}} \times 100\% = \frac{0,278}{6,331} \times 100\% = 4,392\%$$

4.13.4. Perhitungan % Peredaman dan IC_{50} Teh Oolong

Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	% Peredaman
2,04	0,644	35,536
3,06	0,564	43,543
6,12	0,436	56,356
8,16	0,359	64,064
12,24	0,235	76,476

Absorbansi Kontrol = 0,999

Perhitungan Peredaman

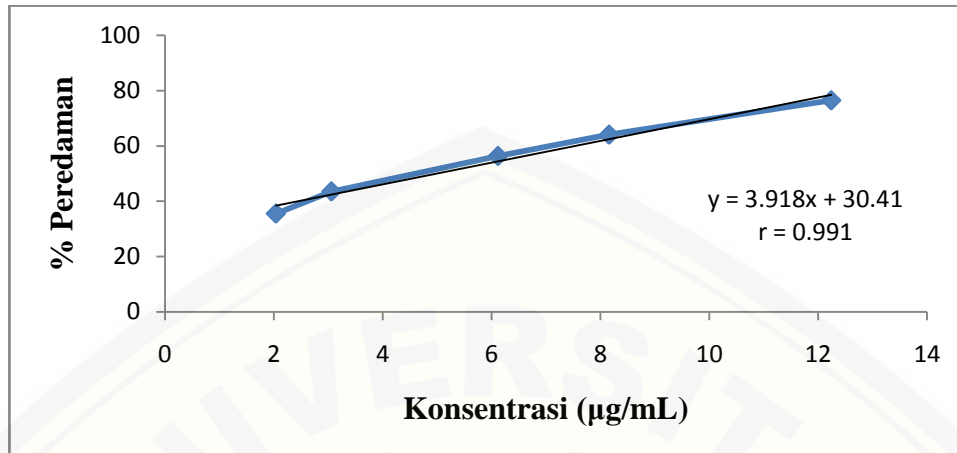
$$\text{a) } 2,04\mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,644}{0,999} \times 100\% = 35,536\%$$

$$\text{b) } 3,06\mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,564}{0,999} \times 100\% = 43,543\%$$

$$\text{c) } 6,12\mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,436}{0,999} \times 100\% = 56,356\%$$

$$\text{d) } 8,16\mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,359}{0,999} \times 100\% = 64,064\%$$

$$\text{e) } 12,24\mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,235}{0,999} \times 100\% = 76,476\%$$



Perhitungan $IC_{50} : 50 = 3,919x + 30,412$

$$x = \frac{50 - 30,412}{3,919}$$

$$x = 4,998$$

$$IC_{50} = 4,998 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Peredaman
2,08	0,620	37,938
3,12	0,546	45,345
6,24	0,433	56,657
8,32	0,343	65,666
12,48	0,220	77,978

Absorbansi Kontrol = 0,999

Perhitungan Peredaman

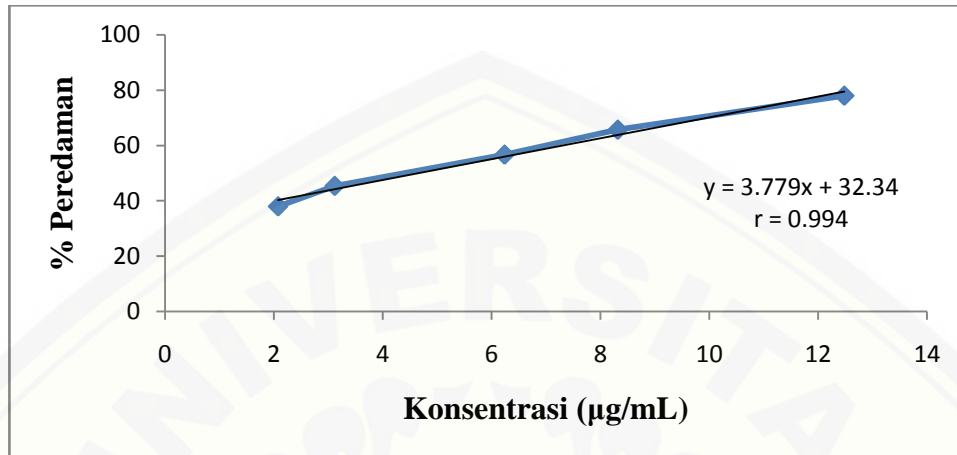
$$a) 2,08 \mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,620}{0,999} \times 100\% = 37,938\%$$

$$b) 3,12 \mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,546}{0,999} \times 100\% = 45,345\%$$

$$c) 6,24 \mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,433}{0,999} \times 100\% = 56,657\%$$

$$d) 8,32 \mu\text{g/mL} = \frac{0,999 - 0,343}{0,999} \times 100\% = 65,666\%$$

$$e) 12,48\mu\text{g/mL} = \frac{0,999-0,220}{0,999} \times 100\% = 77,978\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 3,779x + 32,348$$

$$x = \frac{50-32,348}{3,779}$$

$$x = 4,671$$

$$\text{IC}_{50} = 4,671 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	%Peredaman
2,10	0,617	38,238
3,15	0,566	43,343
6,30	0,444	55,556
8,40	0,364	63,564
12,6	0,254	74,575

Absorbansi Kontrol = 0,999

Perhitungan Peredaman

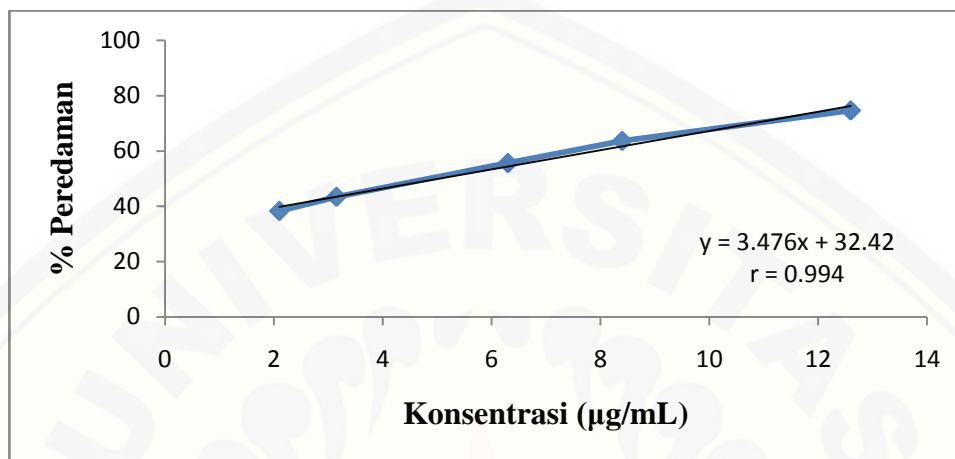
$$a) 2,10\mu\text{g/mL} = \frac{0,999-0,617}{0,999} \times 100\% = 38,238\%$$

$$b) 3,15\mu\text{g/mL} = \frac{0,999-0,566}{0,999} \times 100\% = 43,343\%$$

$$c) 6,30\mu\text{g/mL} = \frac{0,999-0,444}{0,999} \times 100\% = 55,556\%$$

$$d) 8,40\mu\text{g/mL} = \frac{0,999-0,364}{0,999} \times 100\% = 63,564\%$$

$$e) 12,6\mu\text{g/mL} = \frac{0,999-0,254}{0,999} \times 100\% = 74,575\%$$



$$\text{Perhitungan IC}_{50} : 50 = 3,476x + 32,423$$

$$x = \frac{50-32,423}{3,476}$$

$$x = 5,056$$

$$\text{IC}_{50} = 5,056 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{4,998+4,671+5,056}{3} = 4,908$$

$$\text{SD} = 0,208$$

$$\text{RSD (CV)} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata}} \times 100\% = \frac{0,208}{4,908} \times 100\% = 4,235\%$$

Lampiran 4.14 Hasil Uji Anova dan LSD

4.14.1. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Tests of Normality

Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KadarFlavonoid Teh Hijau	.287	3	.	.930	3	.488
Teh Hitam	.370	3	.	.787	3	.083
Teh Oolong	.281	3	.	.937	3	.515

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

KadarFlavonoid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.443	2	6	.662

ANOVA

KadarFlavonoid	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4054.587	2	2027.293	3.665E3	.000
Within Groups	3.319	6	.553		
Total	4057.906	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

KadarFlavonoid
LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Teh Hijau	Teh Hitam	50.863467 [*]	.607279	.000	48.61202	53.11491
	Teh Oolong	34.757733 [*]	.607279	.000	32.50629	37.00918
Teh Hitam	Teh Hijau	-50.863467 [*]	.607279	.000	-53.11491	-48.61202
	Teh Oolong	-16.105733 [*]	.607279	.000	-18.35718	-13.85429
Teh Oolong	Teh Hijau	-34.757733 [*]	.607279	.000	-37.00918	-32.50629
	Teh Hitam	16.105733 [*]	.607279	.000	13.85429	18.35718

*.The mean difference is significant at the 0.01 level.

4.14.2. Penetapan Kadar Fenol Total

Tests of Normality

Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KadarFenol Teh Hijau	.217	3	.	.988	3	.791
Teh Hitam	.252	3	.	.965	3	.640
Teh Oolong	.177	3	.	1.000	3	.964

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

KadarFenol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.260	2	6	.110

ANOVA

KadarFenol	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35186.783	2	17593.391	1.676E3	.000
Within Groups	62.995	6	10.499		
Total	35249.778	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

KadarFenol
LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Teh Hijau	Teh Hitam	144.815833 [*]	2.645653	.000	135.00727	154.62440
	Teh Oolong	115.589767 [*]	2.645653	.000	105.78120	125.39833
Teh Hitam	Teh Hijau	-144.815833 [*]	2.645653	.000	-154.62440	-135.00727
	Teh Oolong	-29.226067 [*]	2.645653	.000	-39.03463	-19.41750
Teh Oolong	Teh Hijau	-115.589767 [*]	2.645653	.000	-125.39833	-105.78120
	Teh Hitam	29.226067 [*]	2.645653	.000	19.41750	39.03463

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

4.14.3. Aktivitas Antioksidan

Tests of Normality

Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 Teh Hijau	.218	3	.	.988	3	.786
Teh Hitam	.234	3	.	.978	3	.717
Teh Oolong	.334	3	.	.859	3	.265
Vitamin C	.233	3	.	.979	3	.723

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.827	3	8	.220

ANOVA

IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.487	3	3.829	107.568	.000
Within Groups	.285	8	.036		
Total	11.771	11			

Post Hoc Tests

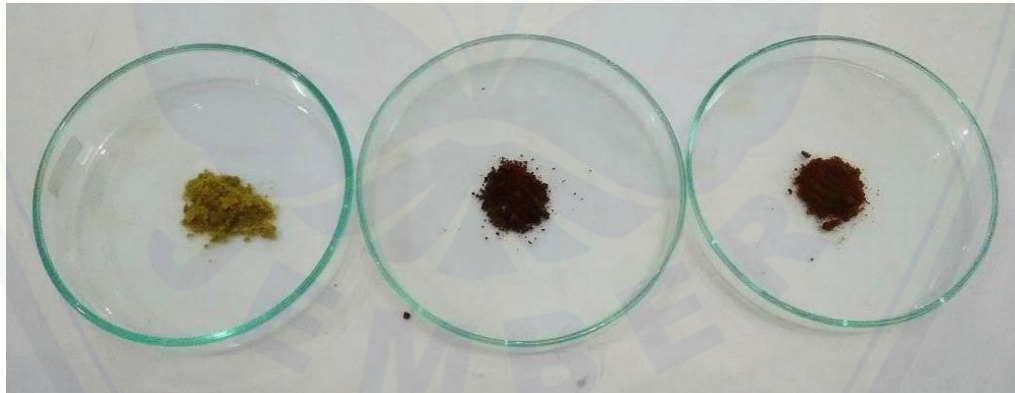
Multiple Comparisons

IC50
LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Teh Hijau	Teh Hitam	-1.614700	.154045	.000	-2.13158	-1.09782
	Teh Oolong	-.191900	.154045	.248	-.70878	.32498
	Vitamin C	1.138567	.154045	.000	.62169	1.65545
Teh Hitam	Teh Hijau	1.614700	.154045	.000	1.09782	2.13158
	Teh Oolong	1.422800	.154045	.000	.90592	1.93968
	Vitamin C	2.753267	.154045	.000	2.23639	3.27015
Teh Oolong	Teh Hijau	.191900	.154045	.248	-.32498	.70878
	Teh Hitam	-1.422800	.154045	.000	-1.93968	-.90592
	Vitamin C	1.330467	.154045	.000	.81359	1.84735
Vitamin C	Teh Hijau	-1.138567	.154045	.000	-1.65545	-.62169
	Teh Hitam	-2.753267	.154045	.000	-3.27015	-2.23639
	Teh Oolong	-1.330467	.154045	.000	-1.84735	-.81359

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Lampiran 4.15 Gambar Ekstrak Air Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Oolong



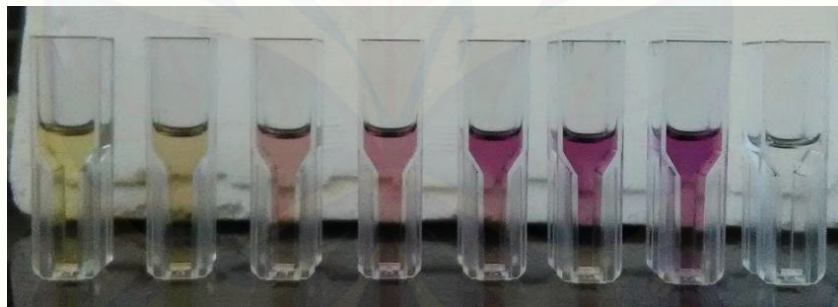
Lampiran 4.16 Gambar Penetapan Kadar Flavonoid Total



Lampiran 4.17 Gambar Penetapan Kadar Fenol Total

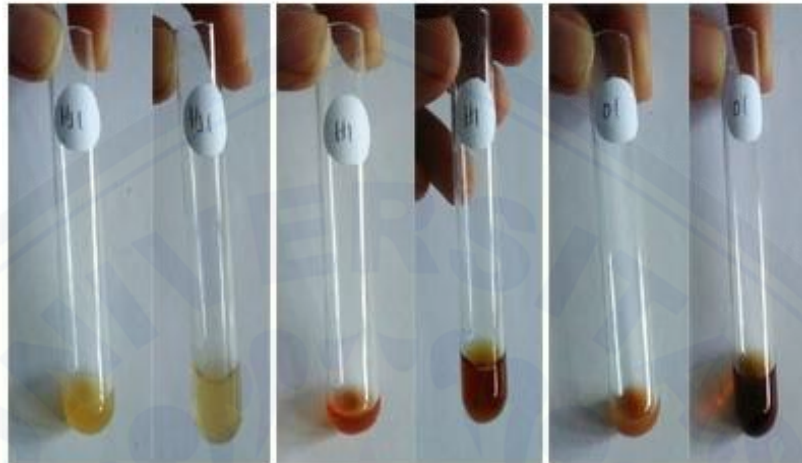


Lampiran 4.18 Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan



Lampiran 4.19 Hasil Skrining Fitokimia

Alkaloid

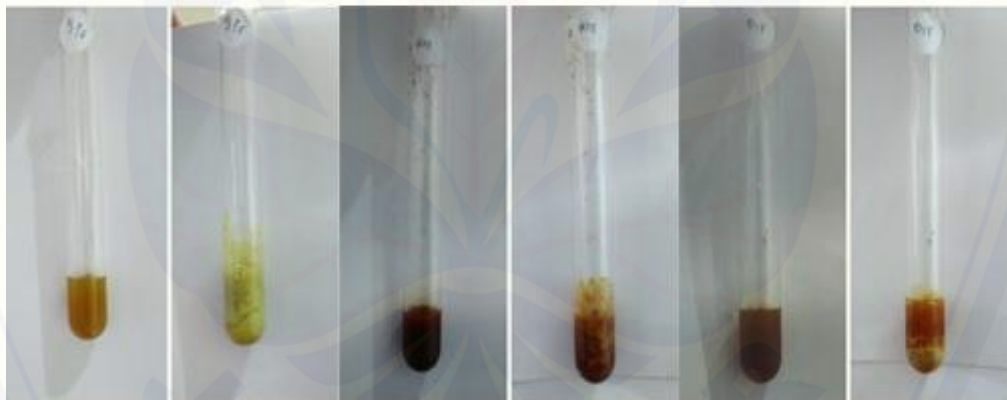


Teh Hijau

Teh Hitam

Teh Oolong

Flavonoid



Teh Hijau

Teh Hitam

Teh Oolong

Glikosida



Teh Hijau



Teh Hitam

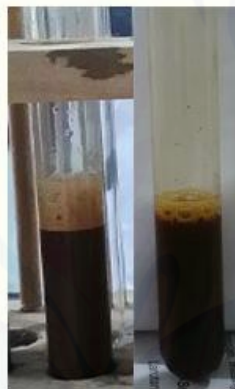


Teh Oolong

Saponin



Teh Hijau

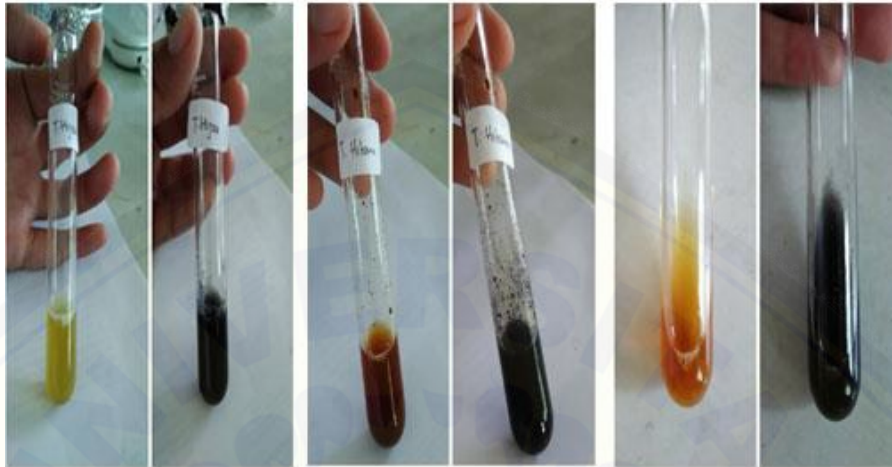


Teh Hitam



Teh Oolong

Tanin

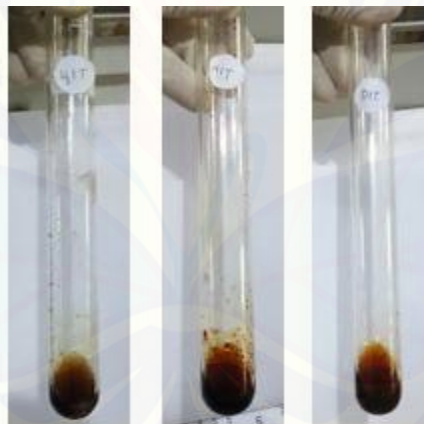


Teh Hijau

Teh Hitam

Teh Oolong

Terpenoid dan Steroid



Teh Hijau

Teh Hitam

Teh Oolong