

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teh Hijau

Teh hijau merupakan hasil pengolahan teh tanpa melalui teknik fermentasi, sekedar melalui proses pengeringan daun setelah dipetik. Tahapan pengolahannya dimulai dari pelayuan, penggulungan, pengeringan sortasi dan grading serta pengemasan. Metode paling umum digunakan adalah metode penguapan sebelum dikeringkan (Sandiantoro, 2012). Teh hijau (*Camellia sinensis*, *Theaceae*) merupakan minuman yang banyak dikonsumsi setelah air mineral, dan memiliki efek pencegahan kanker secara *in vivo*. Polifenol pada teh hijau dipercaya dalam studi epidemiologi maupun studi klinis sebagai pencegahan kanker (Denny H, dan Asep S, 2018). Teh hijau dapat digunakan sebagai obat penyakit periodontal, halitosis, obat kumur untuk mencegah kanker mulut, karies gigi, dan pembentukan plak (Fajriani & Djide, 2015).

Teh hijau banyak dipasarkan dengan berbagai macam bentuk produk yang dapat mengatasi keberadaan radikal bebas di dalam tubuh, mulai dari produk minuman sampai suplemen makanan dengan berbagai kandungan senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antikanker, antimikroba, menurunkan kolesterol darah, mengurangi gula darah, mencegah arthritis, mencegah kerusakan hati, mencegah gigi berlubang, mencegah resiko keracunan makanan, penurunan berat badan dan sebagai antioksidan (Ajisaka, 2012). Dari berbagai macam produk teh hijau diantaranya yaitu teh kemasan dengan jenis teh celup. Teh hijau celup merupakan teh kering hasil pengolahan pucuk daun muda dan daun muda dari tanaman teh (*Camellia sinensis L.*) tanpa melalui proses oksidasi enzimatis dan dikemas dalam kantong dengan atau tanpa tali maupun perekat untuk dicelup dengan atau tanpa bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan (SNI, 2014).

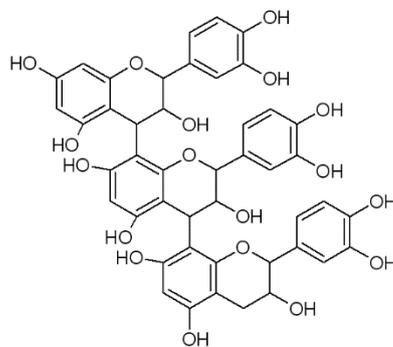
Teh hijau memiliki kandungan yang sangat bermanfaat bagi kesehatan, namun bukan berarti konsumsi teh hijau dalam jumlah berlebihan akan membuat tubuh semakin sehat. Berbagai efek dapat ditimbulkan jika mengonsumsi teh secara berlebihan, mengonsumsi empat hingga tujuh gelas teh dalam sehari akan mengakibatkan reaksi yang merugikan seperti gelisah,

cemas, gangguan tidur, sakit kepala, gangguan sensorik, gejala kardiovaskular, keluhan gastrointestinal (Tira Nadhira, 2020) dan juga dapat menyebabkan penyakit stroke, obesitas, kanker dan kardiovaskular (Fajriani & Djide, 2015). Berdasarkan pada jumlah polifenol atau senyawa antioksidan aktif dalam teh hijau, dua hingga tiga cangkir teh dapat dikonsumsi dalam sehari agar manfaat dalam teh dapat diserap baik oleh tubuh

2.2 Polifenol

Polifenol adalah kelompok senyawa kimia yang diperoleh dari kulit, batang, akar, daun dan buah berbagai tanaman (Mazdink, 2008 dalam Asriani Suhaenah, 2016). Polifenol adalah senyawa fenolik yang memiliki gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa polifenol ini juga banyak terdapat di alam sebagai metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Meita Sari A, 2019).

Istilah polifenol seringkali disalahartikan sebagai bentuk polimerisasi senyawa fenolik, padahal hanya merupakan satu senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus fenol (Meita Sari A, 2019).

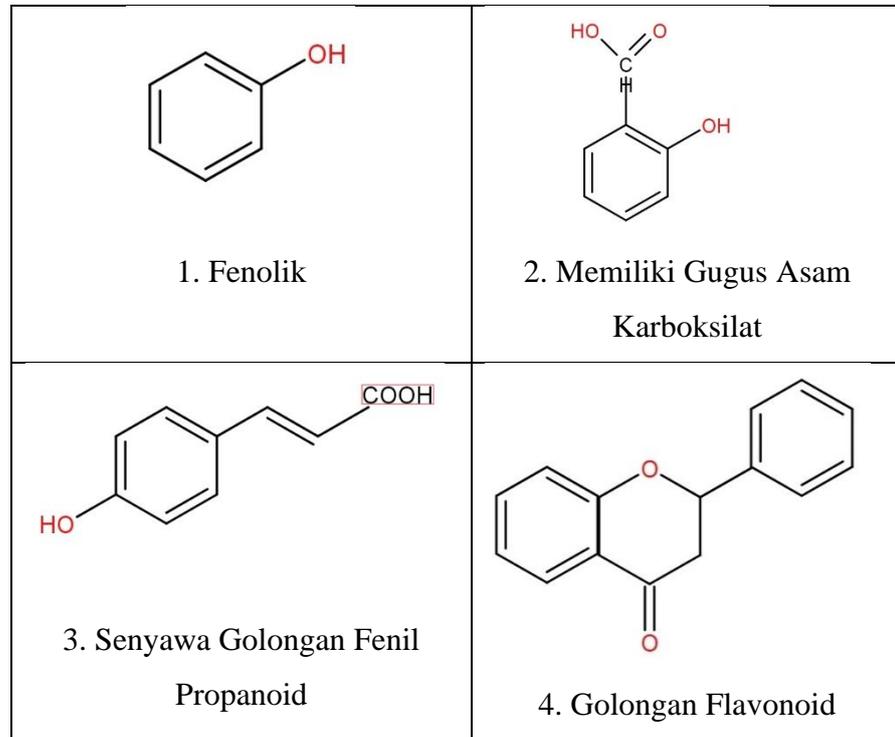


Gambar 2.1 Struktur Polifenol

Polifenol dapat dibagi menjadi 4 bagian umum yaitu :

1. Polifenol yang hanya memiliki struktur dasar aromatik dan gugus OH atau bisa disebut fenolik
2. Polifenol yang struktur dasarnya selain memiliki aromatik dan OH juga mempunyai gugus asam karboksilat

3. Polifenol yang memiliki struktur dasar C_6C_3 atau yang dikenal dengan senyawa golongan fenil propanoid
4. Polifenol yang memiliki kerangka dasar $C_6C_3C_6$ atau yang dikenal golongan flavonoid



Gambar 2.2 Pembagian Umum Struktur Polifenol

Fenol merupakan golongan senyawa yang larut dalam air panas yang menimbulkan rasa pahit dan sepat (Sriyadi, 2012). Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena pada umumnya sering berikatan dengan gula sebagai glikosida, biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harbone JB, 1987). Manfaat kesehatan yang didapat dari teh sebagian besar disebabkan karena adanya polifenol. Polifenol terdapat di semua jenis teh, namun karena pengolahan yang berbeda menyebabkan jumlah polifenol yang terkandung didalam teh juga berbeda (Taylerson, 2012 dalam Ni Made Ratih Suandari, 2016).

Efek yang menguntungkan pada teh hijau adalah kuatnya efek antioksidan oleh komponen polifenol teh hijau. Komponen yang terdapat pada teh hijau yaitu katekin, theaflavin dan thearugibin merupakan komponen antioksidan

yang dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas yang diinduksi oleh stress oksidatif. Sebagai tambahan, teh hijau juga memiliki kemampuan sebagai antimikroba pada berbagai mikroorganisme patogen (Koech KR et al, 2013 dalam Denny H dan Asep S, 2018). Senyawa fenolik yang terkandung dalam tanaman memiliki sifat redoks, sehingga memungkinkan bertindak sebagai antioksidan (Johari dan Heng Yen Khong, 2019).

Polifenol mampu menyumbangkan atom H nya kepada suatu radikal bebas sehingga radikal itu menjadi stabil kembali dan tidak berbahaya. Sebagai akibat reaksi ini, senyawa antioksidan menjadi radikal tetapi radikal yang terbentuk tidak bersifat aktif karena terjadi delokalisasi elektron tunggal pada cincin benzennya (Mitra Fany M, 2012). Penggunaan suhu yang tinggi akan menyebabkan kandungan total fenol dalam teh akan semakin tinggi dikarenakan suhu tinggi dapat meningkatkan pelepasan senyawa fenol pada dinding sel (Wazir et al, 2011) tetapi apabila waktu penyeduhan yang terlalu lama terhadap teh akan menyebabkan kerusakan kadar fenol (Ibrahim et al, 2015)

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan kandungan kimia dari suatu bahan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Desi Irwanta K, 2014). Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987). Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan yaitu (Hasrianti dkk, 2016) :

a. Maserasi

Proses perendaman sampel pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Prinsip dari ekstraksi maserasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam cairan penyari

yang sesuai selama sehari atau beberapa pada temperatur kamar terlindungi dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel.

b. Sokletasi

Menggunakan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel.

c. Perkolasi

Proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut, tetapi efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan

d. Digesti

Maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu pada suhu 40-50°C

e. Refluks

Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

f. Infus

Ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C) selama 15 menit.

g. Dekok

Ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit (Simanjuntak, 2008).

2.3.1 Faktor yang berpengaruh terhadap ekstraksi

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi adalah sebagai berikut (Perina, 2007) :

a. Ukuran partikel

Semakin kecil ukuran partikel berarti semakin besar luas permukaan kontak antara padatan dan pelarut dan semakin

pendek jarak difusi solut sehingga kecepatan ekstraksi lebih besar.

b. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sebaiknya memiliki sifat-sifat sebagai berikut:

- Mampu memberikan kemurnian solut yang tinggi (selektivitas tinggi);
- Dapat didaur ulang;
- Stabil tetapi inert;
- Mempunyai viskositas, tekanan uap, dan titik beku yang rendah untuk memudahkan operasi dan keamanan penyimpanan;
- Tidak beracun dan tidak mudah terbakar;
- Tidak merugikan dari segi ekonomis dan tetap memberikan hasil yang cukup baik

c. pH

Pengontrolan pH dalam ekstraksi pektin memiliki peranan yang penting karena dapat mempengaruhi yield.

d. Pengaruh pengadukan

Pengadukan dalam ekstraksi penting karena meningkatkan perpindahan solut dari permukaan partikel (padatan) ke cairan pelarut.

e. Suhu

Kelarutan akan meningkat seiring dengan kenaikan suhu untuk menghasilkan laju ekstraksi yang tinggi. Koefisien difusi juga akan bertambah tinggi seiring dengan kenaikan suhu sehingga meningkatkan laju ekstraksi. Batas suhu ditentukan untuk mencegah kerusakan pada bahan. Penggunaan suhu yang terlalu tinggi juga dapat mengakibatkan degradasi.

f. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi dalam pelarut, perolehan (yield) yang diperoleh semakin tinggi. Tetapi,

penambahan waktu ekstraksi tidak sebanding dengan yield yang diperoleh. Oleh karena itu, ekstraksi dilakukan pada waktu optimum. Ekstraksi dilakukan selama pelarut yang digunakan belum jenuh. Pelarut yang telah jenuh tidak dapat mengekstraksi lagi atau kurang baik kemampuan untuk mengekstraksinya karena gaya pendorong (driving force) semakin lama semakin kecil. Akibatnya waktu ekstraksi semakin lama dan yield yang dihasilkan tidak bertambah lagi secara signifikan.

2.3.2 Penyeduhan

Proses penyeduhan termasuk salah satu proses ekstraksi yaitu proses pemisahan satu atau lebih komponen dengan atau lebih komponen dengan menggunakan pelarut air. Proses ini sangat penting untuk disosialisasikan kepada masyarakat luas khusus masyarakat yang senang mengkonsumsi minuman herbal seperti teh.

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses penyeduhan yaitu faktor suhu dan lama penyeduhan. Semakin tinggi suhu air maka kemampuan air untuk mengekstrak senyawa kimia yang terkandung di dalam teh akan semakin tinggi, demikian pula dengan lama penyeduhan. Lama penyeduhan akan berpengaruh terhadap terhadap kadar kandungan bahan kimia yang terlarut, intensitas warna serta aroma teh hasil seduhan. Teknik penyeduhan cukup bermanfaat menghasilkan senyawa antioksidan secara maksimal. Proses penyeduhan tersebut berfungsi mempertahankan kualitas senyawa yang kita inginkan. Sehingga tidak terjadi degradasi terhadap kandungan senyawa kimia teh (Ajisaka, 2012).

Cara penyeduhan teh merupakan salah satu hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan teh, agar teh tersebut dapat bermanfaat bagi kesehatan. Waktu dan suhu penyeduhan merupakan faktor penentu terekstraknya senyawa yang terdapat dalam teh. Bertambahnya lama penyeduhan menyebabkan kesempatan kontak antara air penyeduh dengan teh semakin lama. Sehingga proses ekstraksi menjadi lebih sempurna dan

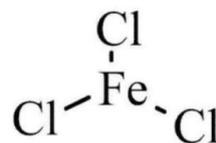
polifenol total semakin meningkat, karena polifenol merupakan senyawa yang larut dalam air (Rohdiana, 2013).

Kebanyakan masyarakat Indonesia membuat satu cangkir teh dengan formulasi 5-10 gram teh yang diseduh dalam air panas dengan lama penyeduhan 5 menit (Somantri, 2011). Penyeduhan yang terlalu lama terhadap teh akan menyebabkan kerusakan kadar fenol dari teh (Ibrahim et al., 2015).

2.4 Analisis kualitatif

Analisis kualitatif menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol.

Hal ini diperkuat oleh Harborne, (1987) cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan sampel dengan larutan FeCl_3 1% dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna-warna tersebut setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin yang merupakan senyawa fenol akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin sebagai senyawa polifenol dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin (polifenol) memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya.



Gambar 2.3 Struktur FeCl_3

2.5 Analisis kuantitatif

Analisis kuantitatif untuk penentuan kadar polifenol menggunakan metode Folin-ciocalteu. Salah satu pereaksi redoks (Pereaksi Folin-Ciocalteu (FC))

beraksi spesifik dengan polifenol dalam ekstrak tanaman membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur kadarnya menggunakan spektrofotometri UV/VIS (Blainski et al., 2013).

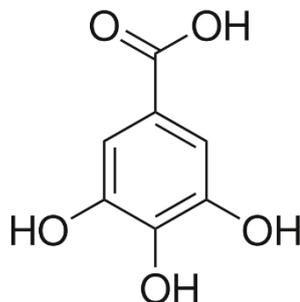
Awalnya metode Folin-Ciocalteu dikembangkan untuk penentuan kolorimetri tirosin, asam amino non-esensial fenolik. Setelah itu, metode ini telah digunakan untuk penentuan beberapa senyawa termasuk fenolat tanaman, obat-obatan, vitamin C dan konstituen lainnya dalam berbagai sampel mulai dari ekstrak tanaman hingga produk urin dan madu (Attard, 2013 dalam Stefanny Agnes S, 2020). Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat, dan bromin (Nurhayati, Siadi, dan Herjono, 2012). Uji penentuan kadar fenolat total dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (F-C) (molibdotungstosulfat heteropolianion $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$) bereaksi dengan senyawa fenolat menghasilkan warna biru $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$. Warna biru pada larutan disebabkan karena logam molibdenum (Mo(VI)) pada senyawa kompleks pereaksi tereduksi menjadi Mo(V) dengan adanya donor elektron oleh antioksidan (Stefanny Agnes S, 2020). Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel (Blainski, 2013).

Dibandingkan dengan metode pengujian kapasitas antioksidan total lainnya, metode Folin-Ciocalteu mempunyai beberapa kelebihan seperti sederhana, cepat, dan akurat, serta absorpsi dari kromofor berada di panjang gelombang yang tinggi sehingga dapat mengurangi gangguan dari matriks sampel (Sánchez-Rangel et al., 2013), dapat diminimalkan pada pemilihan panjang gelombang 600-800 nm (Berker et al. 2013). Prinsip pengukuran kadar total fenol dengan reagen Folin – Ciocalteu yaitu berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenol yang ditandai dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru (Pourmorad, dkk, 2006).

2.5.1 Standar Asam Galat

Standar yang digunakan yaitu larutan asam galat atau asam 3,4,5-trihidroksibenzoat ($\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CO}_2\text{H}$) (Apsari dan Susanti, 2011). Asam

galat merupakan senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang stabil dan sederhana (Sari AK dan Ayuhecaria N, 2017) sehingga digunakan sebagai pembanding.



Gambar 2.4 Struktur Asam Galat

Asam galat merupakan senyawa yang terdapat pada tanaman sebagai metabolit sekunder (Vazirian et al., 2011). Asam galat memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antivirus, analgesik dan antioksidan (Belur and Pallabhanvi, 2011 dalam Junaidia dan Anwara, 2018). Asam galat merupakan trifenol yang biasa terdapat di daun teh dalam bentuk teresterifikasi bersama dengan katekin (Sri Handriyani HR Nurung, 2016).

Asam galat ditetapkan sebagai standart pada penetapan kadar karena asam galat memiliki gugus hidroksil 3 apabila semakin banyak gugus hidroksil, maka semakin reaktif digunakan sebagai antioksidan (Sulastri Sam dkk, 2016) selain itu, asam galat ditetapkan sebagai standart karena memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi pada masing-masing cincin benzene, sehingga senyawa ini dengan reagen *Follin-Ciocalteu* bereaksi membentuk senyawa yang lebih kompleks serta merupakan unit penyusun senyawa fenolik (Adawiah, Sukandar, & Muawanah, 2015).

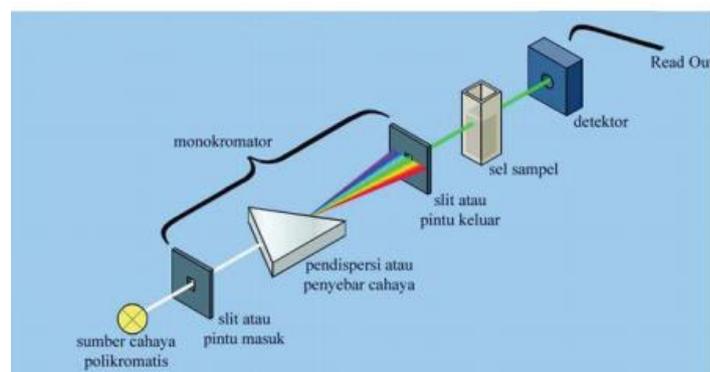
Menurut Naira et al., (2016) sifat kimia asam galat adalah sebagai berikut:

- Memiliki rumus molekul $C_7H_6O_5$.
- Memiliki berat molekul 170,12 g/mol.
- Dapat diidentifikasi dengan kromatografi, dan instrumentasi lainnya.
- Asam galat memiliki gugus karboksilat dan hidroksi.
- Memberikan reaksi warna dengan garam besi.
- Asam galat merupakan turunan dari asam tanat.
- Kelarutan dalam air 1,1 gram dalam 100 ml ($20^\circ C$).

2.5.2 Spektrofotometer Uv-Vis

Metode spektrofotometri ultraviolet-visible (UV-VIS) merupakan salah satu metode analisis yang sangat mudah dilakukan. Metode spektrofotometri UV-VIS secara umum berdasarkan pembentukan warna antara analit dengan pereaksi yang digunakan. Dengan menggunakan pereaksi, warna menjadi peka dan menaikkan sensitivitas sehingga batas deteksinya menjadi rendah (Purwanto dan Ernawati, 2012). Spektrofotometer UV-VIS adalah salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm – 700 nm), biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya (Anom Irawan, 2019). Faktor yang mempengaruhi penyerapan UV-Vis yaitu kromofor, Pemilihan pelarut, Pengaturan suhu, dan Ion-ion organik (Ika Rizki H, 2016).

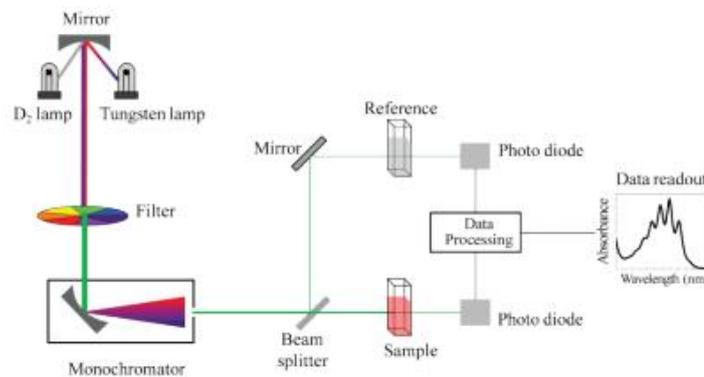
Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam. Single-beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal (Tati Suhartati, 2013).



Gambar 2.5 Skema Spektrofotometer UV-Vis Single Beam (Tati Suhartati, 2013)

Double-beam instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar

pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Skoog, DA, 1996).



Gambar 2.6 Skema Spektrofotometer UV-Vis Double Beam (Tati Suhartati, 2013)

Perbedaan pada keduanya adalah pada spektrofotometer double beam pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan contoh atau standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena blanko dan zat diukur pada saat yang bersamaan (Dwi Warono dan Syamsudin, 2013). Ada empat bagian utama dari instrumen spektrofotometer yaitu :

a. Sumber Radiasi

Sumber radiasi atau lampu pada kenyataannya merupakan dua lampu yang terpisah yang secara bersama-sama mampu menjangkau keseluruhan daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak.

b. Monokromator

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis

c. Kuvet

Kuvet merupakan wadah sampel yang akan dianalisis. Ditinjau dari bahan yang dipakai, kuvet ada dua macam yaitu kuver leburan silika dan kuvet dari gelas

d. Detektor

Fungsi detektor adalah mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik

Kekurangan dari penggunaan instrumen spektrofotometer UV-Vis ini diantaranya senyawa yang akan dianalisa harus memiliki gugus kromofon (gugus pembawa warna), dan memiliki ikatan rangkap terkonjugasi serta mempunyai panjang gelombang yang terletak pada daerah ultraviolet atau visible. Selain itu, hasil absorbansi yang terukur dapat dipengaruhi oleh pH larutan, suhu, adanya zat pengganggu dan kebersihan dari kuvet (Dewa Ayu T.E.S dan Djarot S, 2016).

Metode spektrofotometri UV/VIS banyak menggunakan reaksi kolorimetrik karena mudah, cepat dan biayanya terjangkau. Prinsip metode kolorimetri Folin Ciocalteu adalah reaksi oksidasi yang cepat dengan menggunakan alkali (biasanya natrium karbonat), dimana nilai yang didapat signifikan dengan ion fenolat (Cicco dan Latanzio, 2011). Metode ini mengukur konsentrasi total senyawa fenolik dalam ekstrak tumbuhan. Polifenol dalam ekstrak tumbuhan akan bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu sehingga membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur dengan cahaya tampak spektrofotometri. Reagen Folin Ciocalteu mempunyai kelemahan, yaitu sangat cepat terurai dalam larutan alkali, sehingga perlu untuk menggunakan reagen secara berlebih untuk mendapatkan reaksi yang lengkap. Tetapi penggunaan reagen berlebih dapat menimbulkan endapan dan kekeruhan yang tinggi, sehingga membuat analisis spektrofotometri tidak bisa dilakukan. Untuk mengatasi masalah ini, didalam reagen Folin Ciocalteu terdapat garam lithium, yang dapat mencegah kekeruhan. Reaksi ini pada umumnya memberikan data yang akurat dan spesifik pada beberapa kelompok senyawa fenolik (Blainski et al., 2013).