

Kadar fenolik total dan kapasitas antioksidan ekstrak etanol teh putih (*Camellia sinensis*) hasil iradiasi sinar gamma

Gamma irradiation results of total phenolic content and antioxidant capacity of ethanol extract of white tea (Camellia sinensis)

Bina Lohita Sari, Sri Wardatun, Indra Riyanto, dan Windiawati

Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan
Jl. Pakuan PO Box 452 Bogor 16143
Jawa Barat Indonesia

Email: binalohitasari@unpak.ac.id

Diajukan: 31 Januari 2018; direvisi: 20 Maret 2018; diterima: 13 Agustus 2018

Abstrak

Teh putih dihasilkan dari pucuk teh dengan pengolahan yang sangat sederhana. Jenis teh yang tidak difermentasi ini mengandung berbagai senyawa salah satunya adalah polifenol yang mempunyai kapasitas antioksidan yang tinggi. Pada penelitian ini, dianalisis kandungan fenolik total dan kapasitas antioksidan ekstrak etanol teh putih setelah dilakukan iradiasi pada simplisia dengan sinar gamma dengan dosis 0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; dan 12,5 kGy. Di bidang kefarmasian radiasi sinar gamma dapat digunakan sebagai salah satu metoda yang efisien untuk mengurangi mikroorganisme. Ekstraksi simplisia menggunakan *Microwave-assisted extraction* (MAE) dengan etanol 60% sebagai pelarut pengestraksi. Hasil penentuan kadar fenol total ekstrak teh putih hasil iradiasi dosis 0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; dan 12,5 kGy adalah 121,62; 148,73; 187,28; 126,23; 161,88; dan 162,28 mg SAG/g. Kapasitas antioksidan adalah 16,67; 19,63; 30,08; 25,60; 23,11; 16,15%. Kandungan fenol total dan kapasitas antioksidan menunjukkan dosis iradiasi tertinggi pada 5 kGy.

Kata kunci: Teh putih, fenol total, kapasitas antioksidan, iradiasi sinar gamma

Abstract

White tea is produced from tea shoots with simplest processing. This unfermented tea contents a lot of chemical constituents such as polyphenol that present potent high antioxidant capacity. In this research, analyzed total phenolic content and antioxidant capacity of white tea ethanol extract after exposing simplicial with gamma rays doses of 0; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0; and 12.5 kGy. Gamma ray irradiation in pharmaceutical can be used as one of the most efficient method to reduce microorganisms. The extraction of simplicia used *Microwave-assisted extraction* (MAE) with ethanol 60% as the extraction solvent. The determination result of total phenolic levels of white tea extract irradiated at a doses of 0; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0; and 12.5 kGy were 121.62; 148.73; 187.28; 126.23; 161.88; and 162.28 mg GAE/g. The antioxidant capacity value was 16.67; 19.63; 30.08; 25.60; 23.11; 16.15%. The total phenolic content and antioxidant capacity showed the highest irradiation at 5 kGy dose.

Keywords: White tea, total phenolic, antioxidant capacity, gamma ray irradiation

PENDAHULUAN

Teh putih merupakan jenis teh *Camellia sinensis* yang dihasilkan dari pucuk yang masih menggulung. Proses pengolahannya yang sangat sederhana, tanpa difermentasi dan terlindung dari sinar matahari bertujuan untuk mencegah degradasi polifenol (Teixeira, *et al.*, 2012). Kadar polifenol teh putih lebih tinggi dibandingkan teh lainnya (teh hitam, teh merah atau teh oolong, dan eh hijau) yaitu sebesar 21,54% b/b, sedangkan teh hijau 19,18% b/b (Hilal dan Engelhardt, 2007).

Polifenol yang terkandung pada teh yaitu golongan flavonol (kaemferol, kuarsetin, dan mirisetin), dan tanin. Senyawa tanin pada teh diantaranya adalah epicatechin (EC), epigallo-catechin (EGC), epicatechin-3-gallate (ECG), dan epigallo-catechin-3-gallate (EGCG) (Shahidi dan Naczki, 2004).

Teknik iradiasi gamma mampu mengawetkan bahan pangan dan bahan tanaman obat sehingga dapat memperpanjang masa simpan simplisia. Iradiasi sinar gamma memiliki beberapa keunggulan, diantaranya daya tembusnya yang tinggi terhadap bahan, tidak menaikkan suhu bahan yang diproses, bahan dapat diiradiasi setelah dikemas, tidak meninggalkan residu dan ramah lingkungan (Winarno *et al.*, 2010). Iradiasi pada dosis tertentu dapat meningkatkan kandungan polifenol. Kadar fenolik total daun teh hasil iradiasi sinar gamma dosis 0, 1, 2, 5 dan 10 kGy adalah 89,4 mg/g sampai 93,8 mg/g daun teh (Mishra *et al.*, 2006).

Metode ABTS (2,2-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline) - 6 - sulfonic acid

digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan berdasarkan penghambatan pembentukan kation radikal ABTS⁺ (Papadopoulous, 2008).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan meliputi simplisia teh putih (*Camellia sinensis*), asam klorida pekat, etanol 60%, pereaksi Follin-Ciocalteu, besi (III) klorida, asam galat, natrium karbonat, dan serbuk Mg, pereaksi ABTS, asam galat dan kalium persulfat.

Metode penelitian yang dilakukan yaitu melakukan iradiasi sinar gamma pada simplisia, ekstraksi MAE dengan pelarut etanol 60%, uji fitokimia ekstrak dan menganalisis kandungan polifenol dan kapasitas antioksidan ekstrak.

Iradiasi Sinar Gamma

Simplisia teh putih sebanyak 20 g dikemas menggunakan plastik polietilen (PE) ditutup rapat dengan vacuum sealer. Sampel diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 0; 2,5; 5; 7,5; 10 dan 12,5 kGy. Proses iradiasi dilakukan di Indikator Karet Alam (IRKA), PAIR – BATAN.

Ekstraksi MAE

Pelarut yang digunakan adalah etanol 60% dengan perbandingan 1:6. Ekstraksi dilakukan selama 4 menit 30 detik dengan daya sebesar 700 Watt, kemudian didinginkan pada suhu kamar.

Uji Fitokimia Ekstrak

Uji Polifenol

Ekstrak direaksikan dengan besi (III) klorida. Bila dihasilkan warna biru hitam, maka dapat disimpulkan serbuk simplisia mengandung polifenol (Vimalkumar *et al.*, 2014).

Uji Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dalam etanol, dipanaskan kemudian ditambah beberapa tetes HCl pekat dan bubuk Mg. Bila timbul warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit menunjukkan adanya flavonoid (Trease dan Evans, 1989).

Uji Tanin

Ekstrak dilarutkan dengan aquadest, dipanaskan, ditetaskan dengan larutan gelatin 1% dan natrium klorida 10% (1:1). Hasil positif terbentuknya endapan putih (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Analisis Kadar Fenolik Total

Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Dibuat deret standar asam galat 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dari larutan induk asam galat 100 ppm dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 500 μ L pereaksi Follin-Ciocalteu, dan 4 mL Na_2CO_3 7,5% dan ditepatkan volumenya 10 mL. Selanjutnya diukur pada panjang gelombang maksimum dan diinkubasi pada waktu optimum yang telah diperoleh.

Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 1 mL larutan uji 10 ppm ditambahkan 500 μ L pereaksi Follin Ciocalteu, dan 4 mL Na_2CO_3 7,5%. Dikocok dan ditambahkan aquades. diukur

pada panjang gelombang maksimum dan pada waktu inkubasi optimum. Hasil pengukuran dinyatakan sebagai berat setara dengan asam galat tiap berat ekstrak.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Larutan standar asam galat 10 ppm ditambah 500 μ L pereaksi Follin-Ciocalteu, dikocok hingga homogen. Ditambah 4,0 mL Na_2CO_3 7,5%, dihomogenkan selama 1 menit dan ditambahkan aquades hingga 10 mL. Di inkubasi selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm.

Optimasi Waktu Inkubasi

Larutan standar asam galat 10 ppm ditambahkan 500 μ L pereaksi Follin-Ciocalteu, dikocok hingga homogen, ditambahkan 4,0 mL Na_2CO_3 7,5%. Ditambahkan aquades dan dikocok hingga homogen. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum pada 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit sehingga didapat waktu serapan optimum yang stabil.

Penentuan Kapasitas Antioksidan

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ABTS

Dipipet 0,1 mL larutan ABTS 7 mM ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Diinkubasi selama 6 menit dan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm.

Optimasi Waktu Inkubasi

Di pipet 1 mL larutan standar asam galat 10 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,1 mL larutan ABTS 7 mM, kemudian ditambahkan dengan etanol 96% hingga

tanda batas. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum dan diukur pada waktu 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 menit.

Pembuatan Deret Standar Asam Galat

Dipipet masing-masing 1; 2; 3; 4; 5 dan 6 mL kedalam labu ukur 10 mL. Pada masing-masing labu ukur ditambahkan 0,1 mL ABTS 7 mM kemudian ditepatkan dengan etanol 96% sampai tanda batas, dihomogenkan dan diukur pada panjang gelombang maksimum dan pada waktu optimum.

Pembuatan Larutan Pemanding

Dipipet 1 mL larutan induk standar asam galat 10 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. ditambahkan 0,1 mL larutan ABTS 7 mM, kemudian ditepatkan dengan etanol 96% sampai tanda batas, dihomogenkan dan diukur pada panjang gelombang maksimum dan pada waktu optimum

Pembuatan Larutan Uji

Larutan ekstrak etanol 60% 10 ppm dipipet 5 mL ditambahkan 0,1 mL larutan ABTS 7 mM, kemudian diencerkan dengan etanol 96% sampai 10 mL, dihomogenkan dan diukur pada panjang gelombang maksimum dan waktu inkubasi optimum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi MAE merupakan metode ekstraksi yang memecah dinding sel dengan menggunakan radiasi gelombang mikro dan penetrasi etanol kedalam sel, sehingga komponen polar didalamnya dapat terpisah dan terlarut dalam etanol. Keadaan sel

tanaman yang menjadi panas akibat gelombang mikro, membuat air menguap dan menghasilkan tekanan tinggi pada dinding sel yang menyebabkan menjadi *swelling* (membengkak). Tekanan yang kuat akan mendorong dinding sel pecah yang memudahkan senyawa aktif keluar dari sel yang pecah menuju pelarut disekitarnya sehingga meningkatkan hasil senyawa aktif (Mandal, 2007). Hasil kadar air dan rendemen dapat dilihat pada Tabel 1.

TABEL 1.

Kadar air dan Rendemen Ekstrak Teh Putih

Dosis Iradiasi (kGy)	Teh Putih	
	Kadar Air (%)	Rendemen (%)
0	9,41	27,77
2,5	5,70	28,81
5	7,60	29,51
7,5	9,58	24,16
10	7,64	31,94
12,5	8,31	31,46

Kadar air ekstrak daun teh putih seluruhnya memenuhi syarat kadar air yaitu tidak boleh lebih dari 16,0% (Departemen Kesehatan RI, 2011). Interaksi dengan gelombang mikro pada molekul senyawa yang mengandung air, menyebabkan pecahnya jaringan tanaman dan lepasnya senyawa aktif ke dalam pelarut organik. Sehingga rendemen ekstrak meningkat. Kandungan air yang kecil dapat meningkatkan efisiensi MAE (Lee dan Kim, 2011).

Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa teh putih mengandung senyawa fenolik, tannin dan flavonoid. Penggolongan fenolik yaitu flavonid dan tanin memiliki peranan dapat menangkal

radikal bebas, sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan.

Analisis Kadar fenol Total

Reaksi senyawa fenol dengan dengan reagen Follin-ciocalteu (kuning) adalah hasil reduksi ion fenolat dengan fosfomolibdat-fosfotungstat membentuk senyawa kompleks melibdenum-tungsten membentuk kompleks berwarna biru (Blainski, 2013). Persamaan regresi yang didapat yaitu $y = 0,0739x + 0,0689$, linieritas $R^2 = 0,9988$. Semakin mendekati nilai 1 maka korelasi antara konsentrasi dan serapan sampel semakin kuat. Polifenol pada teh putih lebih tinggi dibandingkan dengan teh hijau, teh olong, dan teh hitam karena teh putih merupakan pucuk daun teh yang masih menggulung dengan proses pengolahan yang sangat sederhana (Hilal dan Engelhardt, 2007). Kadar fenol total ekstrak etanol 60% daun teh putih meningkat bila dibandingkan dengan non-iradiasi (0 kGy). Radiasi sinar gamma dapat mengurangi dan/atau mengaktivasi sintesis senyawa fenolik. Keseimbangan perubahan dan sintesis tergantung pada dosis iradiasi seperti pada dosis 5 kGy yang menunjukkan peningkatan kadar fenol total (Rahayu *et al.*, 2016). Hasil kadar fenolik total ekstrak etanol teh putih terdapat pada Tabel 2.

TABEL 2.

Kadar fenolik total ekstrak etanol teh putih

Dosis Iradiasi	Kadar Fenolik Total Teh Putih (mg SAG/g)
0 kGy	121,62
2,5 kGy	148,73
5 kGy	187,28
7,5 kGy	126,23
10 kGy	161,88
12,5 kGy	162,28

Hasil Pengujian Kapasitas Antioksidan

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum larutan ABTS yaitu pada 410 nm dan waktu inkubasi optimum pada 6 menit. Penetapan Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena asam galat merupakan salah satu jenis golongan senyawa fenolat, murni dan mempunyai kestabilan yang tinggi (Sochor *et al.*, 2010). Asam galat dapat menjadi antioksidan alami karena mampu menyumbangkan atom hidrogen secara cepat pada radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk stabil sehingga bisa memperlambat laju oksidasi dari radikal bebas (Fidrianny *et al.*, 2013). Hasil kapasitas antioksidan metode ABTS ditunjukkan pada Tabel 3.

TABEL 3.

Kapasitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih

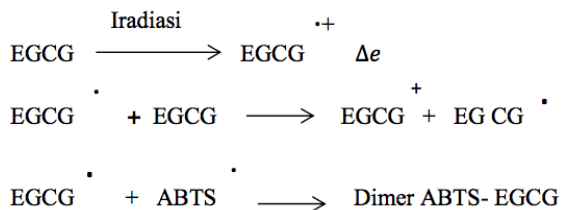
Sampel	Rata-rata Kapasitas Antioksidan (mgSAG/g serbuk)	Persentasi Aktivitas Antioksidan Sampel terhadap Asam Galat (%)
Asam Galat	960,89	100
0 kGy	160,22	16,67
2,5 kGy	188,63	19,63
5 kGy	298,01	30,08
7,5 kGy	245,99	25,60
10 kGy	222,03	23,11
12,5 kGy	155,19	16,15

Kapasitas antioksidan ekstrak teh putih lebih rendah dibandingkan dengan asam galat. Berdasarkan Tabel 2 kapasitas antioksidan pada ekstrak teh putih yang paling tinggi yaitu pada dosis 5 kGy, nilai rata-rata kapasitas antioksidan 298,01 mgSAG/g serbuk dengan persentase aktivitas antioksidan 30,08%.

Kapasitas antioksidan ekstrak teh meningkat dari dosis 0 kGy sampai dengan

dosis 5 kGy. Hal ini disebabkan karena terjadi proses ionisasi pada senyawa dalam ekstrak teh putih sehingga kapasitas antioksidan pada tanaman menurun. Semakin tinggi dosis iradiasi, kadar fenolik menurun secara signifikan, disebabkan degradasi tanin dengan BM tinggi menjadi senyawa fenolik seperti asam galat (Hirashima *et al.*, (2013). Sehingga iradiasi diduga dapat memecah ikatan kompleks untuk membentuk bahan aktif yang baru (Camargo *et al.*, 2012).

Kandungan teh putih terbanyak adalah polifenol yang diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Monomer EGCG menjadi kation radikal karena adanya proses iradiasi (Rosiak, 2004). Kation radikal direaksikan dengan monomer EGCG menjadi radikal yang menghasilkan dimer apabila direaksikan dengan monomer radikal lainnya (Gambar 1) (Legeay *at al.*, 2015).



GAMBAR 1.

Reaksi pembentukan kation radikal EGCG dan reaksinya dengan ABTS

Aktivitas antioksidan yang dihasilkan berperan penting dalam pencegahan penyakit degeneratif dengan cara mempertahankan fungsi sistem imun dan berpotensi menjaga membran sel terhadap serangan oksidan sehingga dapat menangkal radikal bebas. Selain itu, antioksidan juga dapat mengobati penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular,

angina pectoris, katarak, aterosklerosis, kanker dan penyakit diabetes mellitus (Widowati, 2008).

KESIMPULAN

Penentuan kadar fenolik total dan kapasitas antioksidan ekstrak etanol teh putih tertinggi hasil iradiasi 5,0 kGy dengan kadar 187,28 mg SAG/g dan 298,01 mg SAG/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian Pengembangan dan Penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (BP3IPTEK) Provinsi Jawa Barat yang telah membiayai penelitian ini dengan nomor SK 896/Kep.49/BP3IPTEK/2015.

DAFTAR PUSTAKA

Blainski, A., Lopes, G.C., Mello, J.C.P. 2013. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 15: 6852-6865.

Camargo A.C, T.M.F de Souza Viera, M.A.B Regitano-D'Arce, M.A Calori-Domingues and S.G Canniatti-Brazaca. 2012. Gamma Radiation Effects on Peanut Skin Antioxidants. *International Journal Of Molecular Sciences*. 13. 3073-3084.

Fidrianny I, Ira R, dan Komar R.W. 2013. Antioxidant Capacities From Various

- Leaves Extracts Of Four Varieties Mangoes Using DPPH, ABTS Assays and Correlation With Total Phenolic, Flavonoid, Carotenoid. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4): 189-194.
- Hilal, Y and Engelhardt, U. 2007. Characterisation of white tea – Comparison to green and black tea. *J. Verbr. Lebensm.* 2 : 414 – 421.
- Hirashima F.K., Adriana D.T.F., Juliana M.A.S., Thaise C.F.N., Natsha S.G., Ursula M. Lanfer-Marquez., Susy F.S. 2013. Influence of Gamma Irradiation on Phenolic Compounds of Minimally Processed Baby Carrots. *International Nuclear Atlantic Conference*. Brazil.
- Lee, Ji-Y and Kim, J-H. 2011. Effect of water content of organic solvent on microwave-assisted extraction efficiency of paclitaxel from plant cell culture. *Korean J. Chem. Eng.* 28(7): 1561.
- Legeay S., Marion R., Laetitia F., Sebastien and Nicolas C. 2015. Epigallocatechin Gallate: A Review of Its Beneficial properties to Prevent Metabolic Syndrome. *Nutrients*. 5443-5468.
- Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. 2007. Microwave Assisted Extraction– An Innovative and Promising Extraction Tool for Medical Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(!), pp. 7-18.
- Mishra, B.B., S. Gautam, A. Sharma. 2006. Microbial Decontamination of Tea (*Camellia sinensis*) by Gamma Radiation. *Journal of Food Science*. 71 (6) : 151-156.
- Papadopoulos G., Boskou D. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 68:669–71
- Rahayu, D.P., Saputri, F.C., Darwis, D. 2016. The effect of gamma radiation on microbial content and curcuminoids of *Curcuma amada* oxb. Rhizomes. *Atom Indonesia*, 42:2: 53-58.
- Shahidi, F and M. Naczk. 2004. Phenolics in Food and Nutraceuticals. Boca Raton: CRC Press.
- Sochor, J., Ryvolova, M., Krystofova, O., Salas, P., Hubalek, J., Adam, V., Trakova, L., Havel, L., Beklova, M., Zehnalek, J., Provaznik, I., Kizek, R. 2010. Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: advantages and disadvantages. *Molecules*, 15: 8618-8640.
- Teixeira, L.G., Lages, P.C., Jascolka, T.L., Aguilar,E.C., Soares, F.L.P., Pereira, S.S., Beltrao, N.R.M., Matoso, R.O., Ascimento, A.M., Castilho, R.O., Leite, J.I.A. 2012. White tea (*Camellia sinensis*) extract reduces oxidative stress and triacylglycerols in obese mice. *Ciênc. tecnol. aliment., campinas*. 32(4): 733-741.
- Trease, G. E., Evans, W. C. 1989. *Trease and Evan's Textbook of Pharmacognosy*. 13 th Edition. Cambridge University Press, London. 546.
- Vimalkumar, C.S., Hosagaudar, V.B., Suja, S.R., Vilash, V., Krishnakumar, N.M., Latha, P.G., 2014. Comparative preliminary phytochemical analysis

- of ethanolic extrats of leaves of *Olea dioica* Roxb., infected with the rust fungus *Zaghouania oleae* (E.J. Butler) Cummins and non-infected plants. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 3(4):69-72.
- Widowati W. 2008. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. JKM.17(12): 1-11.
- Winarno E.K., Mazda., Hindra R., Hendig W. 2010. Pengaruh Iradiasi Gamma Pada Aktivitas Sitotoksik Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl). Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia Vol. IX, No. 2. Jakarta hlm 67-76