

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK DAN KOMBINASI
MICROWAVE-ULTRASONIK TERHADAP KADAR TOTAL FENOL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH HITAM**

SKRIPSI

Oleh:

**IVVANI AULIA PUTRI
NIM. 18630057**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK DAN KOMBINASI
MICROWAVE-ULTRASONIK TERHADAP KADAR TOTAL FENOL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH HITAM**

SKRIPSI

Oleh:

**IVVANI AULIA PUTRI
NIM. 18630057**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK DAN KOMBINASI
MICROWAVE-ULTRASONIK TERHADAP KADAR TOTAL FENOL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH HITAM**

SKRIPSI

**Oleh:
IVVANI AULIA PUTRI
NIM. 18630057**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 21 Juni 2023**

Pembimbing I



**Eny Yulianti, M.Si
NIP. 19760611 200501 2 006**

Pembimbing II



**Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608 201903 2 009**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



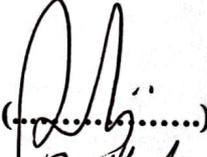
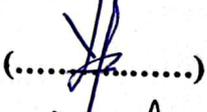
**Rachmawati Wingsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK DAN KOMBINASI
MICROWAVE-ULTRASONIK TERHADAP KADAR TOTAL FENOL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH HITAM**

SKRIPSI

Oleh:
IVVANI AULIA PUTRI
NIM. 18630057

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 21 Juni 2023

Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	
Ketua Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	
Sekretaris Penguji	: Eny Yulianti, M.Si NIP. 19760611 200501 2 006	
Anggota Penguji	: Nur Aini, M.Si NIP. 19840608 201903 2 009	

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ivvani Aulia Putri
NIM : 18630057
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Metode Ekstraksi Ultrasonik dan Kombinasi *Microwave*-Ultrasonik Terhadap Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Teh Hitam

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran organ lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 08 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,



Ivvani Aulia Putri

NIM. 18630057

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbilalamin, segala puji bagi Allah SWT. yang telah memberikan rahmad dan ridho-Nya sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.

Sholawat serta salam terhaturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menunjukkan jalan kebenaran dan inspirasi bagi kita semua. Semoga kita semua mendapatkan syafaat di hari akhir. Skripsi ini saya dedikasikan kepada :

Kedua orang tua saya, ayah dan ibu tercinta, bapak Budi Purwanto, S.P dan ibu Ririn Kholidah, S.P. Terima kasih untuk doa yang selalu dipanjatkan, kasih sayang, dan dukungan baik moral maupun material yang tak terhingga untuk dapat menyelesaikan karya tulis ini. Terima kasih juga kepada saudara-saudara saya dan segenap keluarga besar yang selalu memberikan doa terbaik dan semangat kepada saya.

Bapak/Ibu dosen dan laboran program studi kimia khususnya kepada dosen pembimbing, ibu Eny Yulianti, M.Si dan ibu Nur Aini, M.Si yang telah meluangkan waktu serta memberikan arahan dan nasihat. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si dan bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen penguji yang telah bersabar membimbing saya, memberi arahan dan nasihat dalam proses pembenahan skripsi.

Teman-teman kimia B-ismillah sukses dan teman-teman seperjuangan saya selama di laboratorium khususnya seperjuangan antioksidan dan fenol, Ana, Rista, Azmi, Oliv, Tasya, Dwain, terima kasih sudah mau direpotkan, selalu kebersamai, dan berbagi suka duka selama proses pengerjaan skripsi ini. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT. dan diberikan kelancaran serta kemudahan untuk mencapai apa yang kita harapkan.

Orang-orang baik yang Allah kirimkan untuk menemani pengabdian saya sepanjang masa perkuliahan yakni teman-teman Musyrifah Pusat Ma'had Al-Jami'ah 2019-2022. Kakak-kakak Faza'90, teteh-teteh USA'01, uni-uni ABA'12, adik dampingan kamar 4&5, terima kasih atas kebahagiaan yang telah saya dapatkan dari kalian semua, terima kasih untuk semua kenangan manisnya, terima kasih untuk setiap doa, motivasi, dan bantuan tanpa pamrih. Semoga kita dipertemukan lagi dengan banyak cerita indah di masa depan.

Terakhir, saya ucapkan terima kasih kepada diri saya sendiri yang telah melalui banyak hal, sehingga saya mendapatkan pelajaran berharga dalam hidup. Terima kasih sudah bertahan dan tetap semangat sehingga dapat menyelesaikan tanggung jawab untuk menyelesaikan studi S1.

MOTTO

Orang lain tidak akan bisa paham *struggle* dan masa sulitnya kita, yang mereka ingin tahu hanya bagian *success stories* nya. Berjuanglah untuk diri sendiri. Walaupun tidak ada yang tepuk tangan, kelak diri kita di masa depan akan sangat bangga dengan apa yang kita perjuangkan hari ini. Tetap berjuang ya!

“Allah SWT tidak akan membebani seorang hamba melainkan sesuai dengan kemampuannya.”

(QS. Al-Baqarah: 286)

“Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras. Tidak ada keberhasilan tanpa kebersamaan. Dan tidak ada kemudahan tanpa doa.”

(Ridwan Kamil)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kepada kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Metode Ekstraksi Ultrasonik dan Kombinasi Microwave-Ultrasonik Terhadap Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Teh Hitam”**. Sholawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman jahiliyah menuju zaman ilmiah.

Selama proses penyusunan skripsi ini, penulis mendapat banyak bimbingan, petunjuk, serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Eny Yulianti, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan nasehat kepada penulis.
4. Ibu Nur Aini, M.Si selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan arahan terkait integrasi Al-Qur'an dan Hadist yang sesuai dengan penelitian penulis.
5. Seluruh bapak/ibu dosen dan laboran program studi kimia, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Ayah dan Ibu tercinta yang senantiasa memberikan semangat, doa dan kasih sayang tak terhingga kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan angkatan 2018 terutama Kimia B yang telah memberikan masukan dan semangat kepada penulis.

8. Keluarga besar Pusat Ma'had Al-Jami'ah UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang senantiasa memberi support dan selalu menjadi rumah kedua bagi penulis.
9. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan proposal skripsi ini. Akhir kata, semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 08 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
MOTTO	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
مستخلص البحث	xiv

BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Batasan Masalah.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Teh (<i>Camellia sinensis</i>).....	7
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi Teh	9
2.1.2. Kandungan Senyawa Aktif Daun Teh.....	10
2.2. Ekstraksi Daun Teh	11
2.1.1. Metode Ultrasonik.....	11
2.1.2. Metode Kombinasi <i>Microwave</i> dan Ultrasonik	12
2.3. Penetapan Kadar Total Fenol	14
2.4. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	15
2.5. Analisis Daya Mengembang (<i>Swelling</i>).....	17
2.6. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder.....	17
2.7. <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR)	19
2.8. Spektrofotometer UV-Vis	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.2. Alat dan Bahan	21
3.2.1. Alat	21
3.2.1. Bahan.....	21
3.3. Tahapan Penelitian	22
3.4. Cara Kerja	22
3.4.1. Ekstraksi Daun Teh	22
3.4.1.1. Metode Ultrasonik	22
3.4.1.2. Metode Kombinasi <i>Microwave</i> -Ultrasonik	23

3.4.2. Uji <i>Swelling</i>	23
3.4.3. Penentuan Kadar Total Fenol Metode <i>Folin-Ciocalteu</i>	24
3.4.3.1. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum.....	24
3.4.3.2. Pengukuran Larutan Standar Asam Galat.....	24
3.4.3.3. Penentuan Kadar Total Fenol Sampel	24
3.4.4. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	25
3.4.4.1. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum.....	25
3.4.4.2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan	25
3.4.5. Uji Fitokimia Menggunakan Reagen	26
3.4.5.1. Uji Flavonoid	26
3.4.5.2. Uji Alkaloid	26
3.4.5.3. Uji Steroid/Triterpenoid.....	27
3.4.5.4. Uji Tanin	27
3.4.5.5. Uji Saponin	27
3.4.6. Karakterisasi.....	27
3.4.6.1. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis.....	27
3.4.6.2. Identifikasi FTIR.....	28
3.4.7. Analisis Data	28
BAB IV HASIL PENELITIAN	29
4.1. Ekstraksi Teh Hitam	31
4.2. Penetapan Kadar Total Fenol	32
4.3. Uji Aktivitas Antioksidan.....	35
4.4. Uji Fitokimia	39
4.5. Karakterisasi UV-Vis dan FTIR.....	40
4.5.1. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis	40
4.5.2. Identifikasi FTIR	42
4.6. Pemanfaatan Teh Hitam dalam Perspektif Islam	45
BAB V PENUTUP	49
5.1. Kesimpulan.....	49
5.2. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun teh.....	9
Gambar 2.2 Skema alat ultrasonik <i>waterbath</i>	11
Gambar 2.3 Struktur Fenol	14
Gambar 2.4 Struktur DPPH	16
Gambar 4.1. Sampel teh hitam	29
Gambar 4.2. Kurva kalibrasi asam galat.....	32
Gambar 4.3. Kadar total fenol pada berbagai metode dan waktu ekstraksi	33
Gambar 4.4. Reaksi DPPH dengan antioksidan	35
Gambar 4.5. Nilai IC ₅₀ antioksidan pada berbagai metode dan waktu ekstraksi..	36
Gambar 4.6. Spektra FTIR.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kandungan Senyawa Aktif dalam 100 gr Daun Teh.....	10
Tabel 2.2	Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC ₅₀	16
Tabel 4.1.	Rerata Total Rendemen Ekstrak Teh Hitam	30
Tabel 4.2.	Rerata Rasio <i>Swelling</i> Ekstrak Teh Hitam	30
Tabel 4.3.	Nilai IC ₅₀ Ekstrak Teh Hitam dan Asam Askorbat	38
Tabel 4.4.	Hasil Uji Fitokimia Teh Hitam Metode Ekstraksi Ultrasonik dan Kombinasi <i>Microwave</i> -Ultrasonik Pada Waktu Optimal.....	39
Tabel 4.5.	Hasil Analisis UV-Vis Ekstrak Ultrasonik Pada Waktu Optimal 45 menit.....	41
Tabel 4.6.	Hasil Analisis UV-Vis Ekstrak Kombinasi <i>Microwave</i> -Ultrasonik Pada Waktu Optimal <i>Microwave</i> 4 menit dan Ultrasonik 45 menit ..	42
Tabel 4.7.	Interpretasi Spektra FTIR.....	43

ABSTRAK

Putri, Ivvani Aulia. 2023. Pengaruh Metode Ekstraksi Ultrasonik dan Kombinasi *Microwave*-Ultrasonik Terhadap Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Teh Hitam. *Skripsi*. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Eny Yulianti, M.Si; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si

Kata kunci: *ultrasonik, microwave, senyawa fenolik, antioksidan, teh hitam*

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan salah satu minuman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat di seluruh dunia. Teh dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal karena memiliki kandungan senyawa aktif berupa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga dapat menjaga tubuh dari serangan radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan metode ekstraksi terhadap kadar total fenol dan aktivitas antioksidan teh hitam.

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder pada teh hitam dilakukan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik dengan pelarut air. Residu daun teh hasil ekstraksi dilakukan uji *swelling* sedangkan filtrat dilakukan uji kuantitatif dengan menentukan kadar total fenol menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dan aktivitas antioksidan metode DPPH kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Uji kualitatif meliputi uji fitokimia serta karakterisasi UV-Vis dan FTIR.

ABSTRACT

Putri, Ivvani Aulia. 2023. Effect of Ultrasonic and Combination Microwave-Ultrasonic Extraction Methods on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Black Tea. *Thesis*. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Eny Yulianti, M.Si; Supervisor II: Nur Aini, M.Si

Keywords: *ultrasonic, microwave, phenolic compounds, antioxidant, black tea*

Tea (*Camellia sinensis*) is one of the drinks that are often consumed by people around the world. Tea can be used as herbal medicine because it contains active compounds in the form of polyphenols which have the potential as antioxidants so that they can protect the body from free radical attacks. The purpose of this study was to determine the effect of using the extraction method on the total phenol content and antioxidant activity of commercial black tea.

Extraction of secondary metabolites in black tea was carried out using ultrasonic extraction methods and combined microwave-ultrasonic with water as a solvent. The tea leaf residue extracted was subjected to a swelling test while the filtrate was carried out with a qualitative test for characterization using FTIR, UV-Vis spectrophotometer and phytochemical tests with reagents. Quantitative test was carried out by determining the total phenol content using the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity of the DPPH method was measured using a UV-Vis spectrophotometer.

مستخلص البحث

فوتري ، إيفاني أوليا. ٢٠٢٣. تأثير طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية ومزيج الميكرويف بالموجات فوق الصوتية على محتوى الفينول الكلي والنشاط المضاد للأوكسدة للشاي الأسود. البحث الجامعي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: اني يوليانتني، ماجيستر ساينس؛ المشرف الثاني: نور عيني، ماجيستر ساينس

الكلمات المفتاحية: الموجات فوق الصوتية ، الميكروويف ، مركبات الفينول ، مضادات الأوكسدة ، الشاي الأسود

الشاي (كاميليا سينينسيس) هو مشروب غالبًا ما يستهلكه الناس في جميع أنحاء العالم. يمكن استخدام الشاي كأدوية عشبية لاحتوائه على مركبات نشطة على شكل مادة البوليفينول التي لها القدرة كمضادات للأوكسدة حتى تتمكن من حماية الجسم من هجمات الجذور الحرة. الهدف من هذا البحث هو تحديد تأثير طريقة الاستخلاص على مستويات الفينول الكلية والنشاط المضاد للأوكسدة للشاي الأسود.

تم إجراء استخلاص المستقلبات الثانوية في الشاي الأسود باستخدام طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية والجمع بين الميكروويف والموجات فوق الصوتية مع الماء كمذيب. خضعت بقايا أوراق الشاي المستخرجة لاختبار *swelling* بينما تم إخضاع المرشح لاختبار كمي عن طريق تحديد المحتوى الفينولي الكلي باستخدام طريقة *Folin-Ciocalteu* والنشاط المضاد للأوكسدة لطريقة DPPH ثم تم قياس امتصاصه باستخدام UV-Vis. تضمنت الاختبارات النوعية الاختبارات الكيميائية النباتية وتوصيف UV-Vis و FTIR.

نتائج هذا البحث إلى أن الاستخراج المشترك بالموجات فوق الصوتية والميكروويف يعطي أفضل النتائج مع الوقت الأمثل في الميكروويف ٤ دقائق والموجات فوق الصوتية ٤٥ دقيقة مع إجمالي محتوى الفينول ٤٤٢, ٦٧٦ ملجم / GAE جم و IC₅₀ ٢,٩٦ جزء في المليون بينما يتم الحصول على الاستخراج بالموجات فوق الصوتية في الوقت الأمثل في ٤٥ دقيقة بمستويات إجمالي الفينول كانت ٣١٦,٥٩٩ ملجم / GAE جم و IC₅₀ كانت ٣,٢ جزء في المليون. يحتوي مستخلص الشاي الأسود باستخدام طريقة الجمع بين الميكروويف والموجات فوق الصوتية على مركبات الفلافونويد والتريتربينويد والعفص والصابونين بينما يحتوي مستخلص طريقة الموجات فوق الصوتية على مركبات الفلافونويد والستيرويدات والعفص والصابونين. أظهر التعرف باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis أن هناك حدًا أقصى للامتصاص في كلتا طريقتي الاستخراج بطول موجة يبلغ ٢٠٦ نانومتر و ٢٧٢ نانومتر مما أظهر انتقالًا $\pi \rightarrow \pi^*$ أظهر توصيف FTIR وجود مجموعات وظيفية OH - ، C = C و C-O التي تتميز بالمركبات الفينولية.

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan tanaman hasil perkebunan yang umumnya dikonsumsi sebagai minuman sehari-hari. Bahkan teh berada di posisi kedua sebagai minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di seluruh dunia. Menurut Ariandi *et al.* (2019), pada tahun 2015 Indonesia adalah produsen teh terbesar keenam di dunia dengan rata-rata ekspor mencapai 4,59%. Teh memiliki banyak manfaat untuk kesehatan seperti menurunkan kadar kolesterol darah, mencegah tekanan darah tinggi, serta menurunkan risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler sehingga berpotensi sebagai obat atau sediaan herbal dan dapat dijadikan alternatif untuk mencegah berbagai macam penyakit. Pada dasarnya, setiap penyakit telah Allah SWT. sediakan pula obat untuk menyembuhkannya. Dalam hadits riwayat Muslim nomor 2204, Rasulullah saw. bersabda:

لكل داء دواء، فاذا اصاب دواء الداء برأ باذن الله عزوجل (رواه مسلم)

Artinya: “Setiap penyakit ada obatnya. Jika obat itu mengenai penyakit maka ia akan sembuh dengan izin Allah azza wa jalla”. (HR. Muslim)

Thibbun Nabawi: Maksud dari hadits ini adalah jika seseorang diberi obat sesuai dengan penyakit yang dideritanya dan waktunya sesuai dengan yang ditentukan oleh Allah SWT., orang sakit tersebut akan sembuh dengan seizin Allah SWT.

Ungkapan Rasulullah, “Setiap penyakit ada obatnya” memberikan penguatan serta dorongan untuk tidak hanya mencari obat dari suatu penyakit tetapi juga menyelidikinya. Hadist ini memberikan petunjuk tentang adanya obat bagi setiap

penyakit salah satunya melalui perantara teh yang dapat dimanfaatkan untuk obat atau sediaan herbal guna mencegah berbagai macam penyakit degeneratif seperti jantung, diabetes, hipertensi, dan lain-lain. Dengan demikian, diperlukan ikhtiar atau usaha salah satunya melalui penelitian sehingga dapat diketahui khasiat dan efektivitasnya. Allah SWT. berfirman:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”. (Q.S. Asy-Syu'ara: 7)

Tafsir Qurthubi: Allah memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, bahwa jika mereka melihat dengan hati dan mata mereka niscaya mereka mengetahui bahwa Allah adalah yang berhak untuk disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu. *Az-Zauj* adalah warna. Demikian yang dikatakan oleh Al Farra. Lafal كَرِيمٍ artinya baik dan mulia. Adapun asal kata *al karam* dalam bahasa Arab adalah *al fadhl* (keutamaan). *Nakhlah kariimah* artinya kurma kurma yang unggul dan banyak buahnya. *Rujulun kariimun* artinya mulia, unggul, dan suka memaafkan. *Nabatat al ardhu* dan *anbatat* artinya sama yaitu menumbuhkan, dan ini telah dijelaskan dalam surah Al Baqarah.

Tumbuh-tumbuhan itu mulia dengan segala kehidupan yang ada di dalamnya yang bersumber dari Allah SWT. Tumbuhan yang baik dapat diartikan sebagai tumbuhan yang dapat bermanfaat baik bagi manusia maupun makhluk hidup lainnya. Ayat ini mengisyaratkan untuk kita sebagai umat manusia memperhatikan segala yang telah Allah ciptakan di bumi ini salah satunya tumbuhan. Tumbuhan diciptakan oleh Allah SWT. untuk dapat diambil manfaatnya. Seperti halnya tanaman teh yang memiliki banyak manfaat karena mengandung banyak senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga diharapkan manusia dapat

memperhatikan dan meneliti apa saja manfaat yang terkandung pada tanaman-tanaman ini.

Selain kaya akan manfaat, teh juga memiliki banyak varian seperti teh putih (*white tea*), teh oolong (*oolong tea*), teh hitam (*black tea*), teh hijau (*green tea*), dan sebagainya. Diantara jenis teh ini, teh hitam merupakan teh yang paling banyak diproduksi di dunia yaitu sebesar 78% diikuti teh hijau, teh oolong, dan teh putih. Proses pengolahan teh hitam melalui fermentasi sehingga menghasilkan banyak senyawa aktif salah satunya *theaflavin* yang merupakan senyawa polifenol yang berpotensi kuat sebagai antioksidan.

Pemisahan senyawa aktif dalam teh hitam dapat dilakukan dengan metode *green extraction* untuk meminimalkan dampak terhadap lingkungan salah satunya metode ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik lebih disukai untuk mengekstrak produk alami karena dapat meningkatkan laju perpindahan massa melalui gelombang *ultrasound*. Teknologi inovatif seperti gabungan ekstraksi berbantuan *ultrasound* dan gelombang mikro baru-baru ini dieksplorasi untuk mengekstrak beberapa senyawa bioaktif dari mikroalga. Penelitian Garcia-Vaquero, *et al.* (2020) menyatakan bahwa proses ekstraksi ultrasonik tunggal maupun digunakan secara berurutan dengan metode ekstraksi lainnya telah menunjukkan keuntungan yang menjanjikan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan dari mikroalga. Menggabungkan dua atau lebih teknik ekstraksi seperti ekstraksi gelombang mikro dan *ultrasound* dapat mempercepat waktu pemrosesan dan lebih efisien daripada ekstraksi tunggal. Metode kombinasi ini cukup menjanjikan karena dapat meningkatkan laju ekstraksi, meminimalkan konsumsi energi dan pelarut, serta

meningkatkan kualitas produk sehingga tergolong ramah lingkungan untuk mengekstraksi produk alami (Chemat *et al.*, 2017).

Penelitian terkait metode ekstraksi kombinasi *microwave* dan ultrasonik secara berkelanjutan belum pernah diteliti pada teh hitam. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian dengan membandingkan metode ekstraksi ultrasonik tunggal dengan kombinasi *microwave*-ultrasonik untuk mengetahui efektivitas dan efisiensi metode ekstraksi. Kedua metode ini dilakukan optimasi waktu ekstraksi kemudian dianalisis secara kualitatif meliputi analisis daya mengembang (*swelling*), uji fitokimia, serta karakterisasi sebagai data pendukung untuk mengetahui perbedaan pengaruh kedua metode ekstraksi.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini:

1. Bagaimana pengaruh metode ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik terhadap kadar total fenol dan aktivitas antioksidan teh hitam dengan optimasi waktu ekstraksi?
2. Bagaimana daya mengembang (*swelling*) residu teh hitam menggunakan ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik?
3. Bagaimana hasil karakterisasi UV-Vis dan FTIR pada teh hitam menggunakan ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik terhadap kadar total fenol dan aktivitas antioksidan teh hitam dengan optimasi waktu ekstraksi.
2. Untuk mengetahui daya mengembang (*swelling*) residu teh hitam menggunakan ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik.
3. Untuk mengetahui hasil karakterisasi UV-Vis dan FTIR pada teh hitam menggunakan ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik.

1.4. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah teh hitam.
2. Ekstraksi menggunakan metode ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik secara berkelanjutan dengan optimasi waktu ekstraksi.
3. Analisis daya mengembang (*swelling*) secara gravimetri.
4. Metode penentuan kadar total fenol menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*
5. Metode pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.
6. Uji fitokimia meliputi uji flavonoid, alkaloid, steroid/triterpenoid, tanin dan saponin.
7. Karakterisasi menggunakan UV-Vis dan FITR.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini memberikan informasi tentang kandungan senyawa aktif dalam teh hitam salah satunya senyawa fenolik yang merupakan kandungan terbesar dalam teh dan berpotensi sebagai antioksidan guna mencegah penyakit degeneratif. Hasil penelitian ini juga memberikan informasi terkait pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar total fenol dan aktivitas antioksidan teh hitam sehingga dapat diketahui metode ekstraksi manakah yang lebih efisien untuk memaksimalkan potensi teh hitam khususnya sebagai sediaan herbal.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Teh (*Camellia sinensis*)

Camellia sinensis atau yang dikenal sebagai teh merupakan salah satu tanaman yang sering dikonsumsi sebagai minuman sejak dahulu kala. Tanaman teh tumbuh subur pada daerah dengan kondisi lembab, beriklim hangat dengan curah hujan yang tinggi. Oleh karena itu, tanaman ini tumbuh subur di beberapa wilayah Indonesia khususnya wilayah pegunungan dengan suhu berkisar 13°C - 25°C (Haq *et al.*, 2016). Teh memiliki banyak khasiat sehingga banyak dibudidayakan dan diolah sebagai bahan baku industri salah satunya sebagai minuman. Pembuatan teh melalui proses pengolahan dengan tingkat oksidasi yang berbeda sehingga menghasilkan jenis teh dengan cita rasa dan aroma yang beraneka macam. Sebagaimana firman Allah SWT. dalam Q.S. Taha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ
تَّيْبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.”

Tafsir Jalalain: Dia (yang telah menjadikan bagi kalian) di antara sekian banyak makhluk-Nya (bumi sebagai hamparan) tempat berpijak (dan Dia memudahkan) mempermudah (bagi kalian di bumi itu jalan-jalan) tempat-tempat untuk berjalan (dan Dia menurunkan dari langit air hujan) yakni merupakan hujan. Allah berfirman menggambarkan apa yang telah disebutkan-Nya itu sebagai nikmat dari-Nya, kepada Nabi Musa dan dianggap sebagai khithab untuk penduduk Mekah. (Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis) bermacam-macam

(tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam). Lafal شَيْءٍ ini menjadi kata sifat daripada lafal أَزْوَاجًا, maksudnya, yang berbeda-beda warna dan rasa serta lain-lainnya. Kata شَيْءٍ adalah bentuk jamak dari lafal *Syatiitun*, wazannya sama dengan lafal *Mardhaa* sebagai jamak dari lafal *Mariidhun*. Ia berasal dari kata kerja *Syatta* artinya *Tafarraqa* atau berbeda-beda.

Allah SWT. menjadikan bumi sebagai buaian bagi manusia agar menjadi tempat berjalan, berkebun dan membangun kehidupan. Kemudian Allah turunkan air dari langit sehingga dengan air ini muncullah tumbuh-tumbuhan untuk makanan manusia dan hewan ternak. Allah SWT. telah berkehendak agar tumbuh-tumbuhan ini memiliki berbagai macam jenis sebagaimana makhluk hidup lainnya dengan berbagai rasa, aroma, warna, bentuk, dan manfaat. Hal ini sama halnya dengan tanaman teh yang juga memiliki berbagai macam jenis dengan rasa, aroma, warna dan khasiat yang berbeda-beda pula.

Berdasarkan proses pengolahannya, teh dibedakan menjadi 4 macam, yaitu: teh putih, teh hijau, teh oolong dan teh hitam.

1. Teh putih menggunakan bahan baku yang digunakan berasal dari daun teh pilihan yang mengalami proses pelayuan dan pengeringan sangat singkat tanpa melalui proses fermentasi (Lelita *et al.*, 2018).
2. Teh hijau mengalami proses aktivasi enzim polifenol oksidase pada pucuk daunnya untuk mencegah oksidasi enzimatik pada katekin dengan bantuan mesin pelayuan berupa *steamer*. Setelah itu, daun teh digulung lalu dikeringkan hingga diperoleh kadar air tertentu (Rohdiana, 2015).

3. Teh oolong diproduksi melalui proses fermentasi sebagian dimana daun teh melalui proses pemanasan setelah penggulungan daun lalu dikeringkan untuk menghentikan proses fermentasi (Lelita *et al.*, 2018).
4. Teh hitam diproduksi melalui proses fermentasi atau oksidasi enzimatik pada katekin daun teh. Produk utama dari proses oksidasi enzimatik ekstrak teh hitam adalah *teaflavin* dan *tearubigin* (Lelita *et al.*, 2018).

2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi Teh

Menurut Khurshid *et al.* (2016) klasifikasi tanaman teh (*Camellia sinensis*)

terdiri dari:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub-kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super-divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub-kelas	: <i>Dilleniidae</i>
Ordo	: <i>Theales</i>
Famili	: <i>Theaceae</i>
Genus	: <i>Camellia L.</i>
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i>



Gambar 2.1 Daun teh (Wulandari, 2021)

Tanaman teh memiliki daun tunggal, berbentuk lanset dengan tulang daun menyirip dan berujung lancip. Daun teh memiliki panjang 4-15 cm dan lebar 2-5 cm yang tumbuh secara berselang-seling. Daun teh muda berwarna hijau muda dan lebar sedangkan daun tua akan berwarna lebih gelap dan lebih halus. Bagian tepi daun memiliki tekstur kasar dan bergerigi dengan tangkai daun yang lebar dan rata (Herlina & Wardani, 2019).

2.1.2. Kandungan Senyawa Aktif Daun Teh

Tumbuhan sebagai makhluk hidup mengalami proses reaksi kimia yang disebut dengan proses metabolisme. Proses ini akan menghasilkan senyawa aktif dalam bentuk metabolit primer dan metabolit sekunder. Penelitian Musdalifah (2016) melaporkan beberapa komponen yang terdapat pada 100 g daun teh sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa Aktif dalam 100 g Daun Teh

Komponen	Jumlah
Karbohidrat	4%
Pektin	6%
Protein	20%
Vitamin E	25-70 mg
Katekin	63-270 mg
Tanin	9-20%
Kafein	2,5-4,5%
Vitamin K	200-500 UI/g
Polifenol	25%

Sumber: Musdalifah (2016)

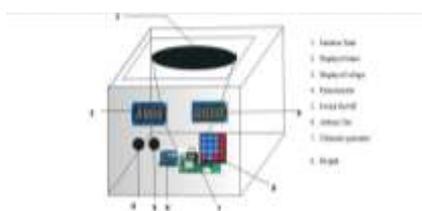
Teh mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa polifenol. Senyawa polifenol inilah yang memiliki banyak khasiat sebagai antioksidan, antihipertensi, antikarsinogenik, antimutagenik, dan hipokolesterolemik (Yuslianti, 2018). Adapun golongan terbesar dari senyawa polifenol dalam daun teh yaitu flavonoid. Beberapa penelitian menyatakan bahwa flavonoid dapat menurunkan

resiko terjadinya aterosklerosis pada penyakit jantung serta menurunkan hiperlipidemia (Astawan & Kasih, 2008).

2.2. Ekstraksi Daun Teh

2.2.1. Metode Ultrasonik

Metode ekstraksi ultrasonik adalah ekstraksi yang melibatkan transmisi energi dengan gelombang *ultrasound* menggunakan cairan sebagai media propagasi. Metode ini lebih disukai untuk ekstraksi produk alami hal ini karena dapat meningkatkan laju perpindahan massa yang disebabkan oleh kavitasi yang dihasilkan material. Selain itu, proses ekstraksi lebih singkat karena kelarutan analit dalam media ekstraksi semakin meningkat sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi (Prasetyaningrum *et al.*, 2022).



Gambar 2.2 Skema alat ultrasonik *waterbath* (Junaidi *et al.*, 2020)

Proses ekstraksi secara ultrasonik diawali dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai kemudian dikenai gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik ini yang akan memecah dinding sel dan mengeluarkan komponen senyawa aktif dalam sel kemudian bercampur dengan pelarut. Gelombang ini juga memperbesar pori-pori pada dinding sel tanaman sehingga meningkatkan proses difusi dan perpindahan massa (Yingngam *et al.*, 2014). Selain meningkatkan hasil ekstraksi, metode ini juga dapat meningkatkan kualitas makanan dengan meminimalkan waktu proses, energi dan meningkatkan umur penyimpanan.

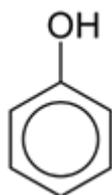
2.2.2. Kombinasi Metode *Microwave* dan Ultrasonik

Kombinasi metode ekstraksi *microwave* dan ultrasonik secara berkelanjutan dilakukan dengan menggunakan ekstraksi berbantuan gelombang mikro sebagai perlakuan awal dilanjutkan dengan ultrasonik. Pada perlakuan awal, efek gelombang mikro dalam *microwave* akan menyebabkan uap air menguap dengan cepat dan menghasilkan tekanan yang besar. Tekanan ini mengakibatkan ekspansi dan pecahnya sel sehingga dapat membebaskan senyawa aktif ke dalam pelarut (Yu *et al.*, 2017). Iradiasi simultan dengan energi *ultrasound* dan gelombang mikro dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi dan mempercepat pelepasan target dari matriks. Kombinasi kedua ekstraksi ini dapat dianggap sebagai salah satu strategi yang paling efektif untuk mengekstrak bahan kimia bioaktif dari tanaman seperti bunga, buah, daun, kulit kayu, biji dan polong (Prasetyaningrum *et al.*, 2022)

Ekstraksi gelombang mikro dan ultrasonik secara berkelanjutan menggabungkan keuntungan dari dua jenis metode ekstraksi, seperti konsumsi pelarut yang rendah, konsumsi energi rendah, meminimalkan preparasi sampel, serta meningkatkan efisiensi ekstraksi dengan waktu operasi yang relatif singkat (Wang *et al.*, 2017). Kombinasi metode ini juga relatif lebih murah jika dibandingkan dengan teknologi ekstraksi terbaru seperti ekstraksi cairan superkritis, ekstraksi dengan bantuan enzim, dan ekstraksi cairan bertekanan tinggi. Selain itu, kombinasi *microwave*-ultrasonik dapat memberikan energi aktivitas tinggi yang diperlukan untuk proses ekstraksi guna mencegah degradasi senyawa bioaktif dalam ekstrak (Prasetyaningrum *et al.*, 2022).

2.3. Penetapan Kadar Total Fenol

Senyawa fenol merupakan golongan senyawa terbesar yang berpotensi sebagai antioksidan alami dan dapat dijumpai pada hampir seluruh bagian tanaman. Secara struktural, senyawa ini tersusun dari cincin aromatik dengan gugus hidroksil sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.9. Potensi antioksidan dalam senyawa fenolik disebabkan karena adanya gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik menyebabkan senyawa fenolik dapat menyumbangkan atom hidrogennya untuk bereaksi dengan radikal bebas sehingga dapat menetralsir radikal bebas yang merusak jaringan dan sel tubuh (Ardila, 2020). Semakin besar kadar total fenol maka semakin banyak gugus hidroksil sehingga semakin banyak pula atom hidrogen yang bereaksi dengan radikal bebas.



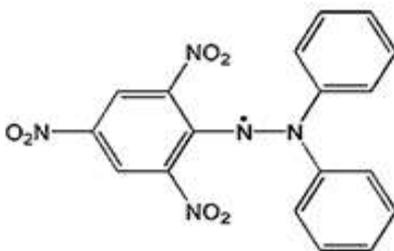
Gambar 2.3 Struktur Fenol (Cahyani, 2015)

Paramita dkk (2020) menyatakan bahwa teh memiliki kandungan senyawa fenolik yang cukup besar yaitu 5-27% sedangkan pada daun teh segar sebesar 36%. Penentuan kadar suatu senyawa fenolik pada suatu sampel dapat diukur secara kolorimetri menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Pengukuran ini didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi antara senyawa fenolik dengan reagen *Folin-Ciocalteu* membentuk kompleks berwarna biru yang kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar total fenol yang diukur akan setara dengan massa ekuivalen asam galat atau GAE (*Gallic acid equivalent*). Penetapan kadar total fenol pada teh menggunakan ekstraksi ultrasonik telah dilakukan oleh

Wibisono & Kunarto (2021) dengan variasi lama penyeduhan diperoleh kadar total fenol tertinggi pada 6 menit yaitu sebesar 4,71 mgGAE/g.

2.4. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Antioksidan merupakan zat yang berperan penting bagi tubuh. Secara alami, antioksidan dalam tubuh mampu mereduksi radikal bebas dengan cara menetralsir, mencegah dan menghilangkan kerusakan oksidatif molekul target melalui penangkapan radikal bebas dari molekul target (Procházková *et al.*, 2011). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH. DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) adalah radikal bebas berbentuk serbuk kristal berwarna gelap. Metode DPPH paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dari suatu antioksidan alami karena memiliki beberapa kelebihan, yaitu sensitif, cepat, serta bersifat stabil (Gajić *et al.*, 2020).



Gambar 2.4 Struktur DPPH (Gajić *et al.*, 2020)

DPPH memiliki elektron tidak berpasangan sehingga ketika direaksikan dengan suatu zat antioksidan akan menerima elektron atau radikal hidrogen membentuk senyawa non radikal yang lebih stabil. Indikator terjadinya interaksi ini ditandai dengan memudarnya warna ungu DPPH yang kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengujian metode DPPH dapat

diinterpretasikan sebagai nilai IC_{50} (*inhibition concentration*) yang menyatakan banyaknya konsentrasi larutan ekstrak yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Penelitian Ardila (2020) telah melakukan pengujian antioksidan daun teh menggunakan metode ekstraksi maserasi menunjukkan bahwa antioksidan teh tergolong kategori sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 4,90 $\mu\text{g/mL}$. Penggolongan nilai IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50}	Keterangan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah
>200 ppm	Sangat lemah

Sumber: Molyneux (2004)

2.5. Analisis Daya Mengembang (*Swelling*)

Uji *swelling* merupakan analisis terhadap kemampuan sampel dalam menyerap air yang ditandai dengan pembengkakan matriks atau mengembangnya sampel ketika ditempatkan pada larutan hipotonik. Pengujian ini didasarkan pada kemampuan suatu cairan melewati membran dari suatu sampel selama proses ekstraksi. Hasil pengujian ini dinyatakan sebagai banyaknya air yang terserap atau rasio *swelling* yang dihitung secara gravimetri dengan cara menimbang berat sampel sebelum dan sesudah ekstraksi (Munawwaroh, 2019). Penelitian Hu, *et al.* (2016) melaporkan bahwa hasil *swelling* daun teh menunjukkan partikel teh hampir tidak mengembang dalam pelarut etanol absolut (13,42%) dan cenderung lebih mudah mengembang dalam air dengan rasio *swelling* sebesar 203,51%. Hal ini

sebanding dengan hasil ekstraksi dimana rendemen katekin dan kafein meningkat secara signifikan seiring dengan peningkatan jumlah air untuk *pra-swelling*.

2.6. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Daun teh umumnya terdapat kandungan senyawa aktif berupa metabolit sekunder antara lain: flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, tanin, steroid dan triterpenoid (Geoffrey *et al.*, 2014). Identifikasi metabolit sekunder dapat dilakukan secara kualitatif melalui uji fitokimia menggunakan reagen yang dapat memberikan perubahan warna yang berbeda untuk setiap senyawa metabolit sekunder (Salimi, 2021). Uji fitokimia akan memberikan hasil positif yang menandakan adanya senyawa aktif ditandai dengan perubahan warna pada saat direaksikan.

a) Flavonoid

Flavonoid adalah golongan senyawa fenol terbesar yang tersusun dari dua gugus cincin benzena tersubstitusi dan 15 atom C yang dihubungkan oleh rantai propana. Flavonoid dapat ditemukan pada bagian tanaman mulai akar, daun, bunga, batang, buah dan biji. Beberapa aktivitas farmakologis dari senyawa flavonoid diantaranya sebagai antioksidan, antitumor dan antimikrobia (Raharjo, 2013).

b) Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang mengandung atom nitrogen dasar. Alkaloid tersebar luas di alam dan terdapat pada berbagai bagian tanaman. Alkaloid memiliki beberapa aktivitas farmakologis seperti antibakteri, antijamur, antiinflamasi, antidiabetes, analgesik, dan antikanker (Kabera *et al.*, 2014).

c) Steroid dan Triterpenoid

Steroid adalah senyawa turunan lipid yang memiliki inti dengan 4 cincin. Secara struktural, steroid dan triterpenoid saling berkaitan namun beberapa jalur khusus dalam biosintetisnya akan menghasilkan struktur tertentu. Beberapa aktivitas farmakologis yaitu sebagai antifungus, antibakteri, insektisida dan antivirus (Radam & Purnamasari, 2016).

d) Tanin

Tanin adalah golongan senyawa fenolik yang mudah larut dalam air. Tanin memiliki kerangka cincin aromatik dan gugus hidroksil yang tersusun dari berbagai kelompok oligomer dan polimer. Tanin memiliki beberapa aktivitas farmakologis yaitu sebagai antidiare dan antiinflamasi (Kabera *et al.*, 2014).

e) Saponin

Saponin merupakan glikosida kompleks yang memiliki struktur aglikon berupa steroid atau triterpenoid. Saponin tersebar luas pada tumbuhan yang memiliki berbagai sifat fisikokimia dan biologis. Senyawa saponin dapat berfungsi sebagai antimikroba, antioksidan dan insektisida (Kabera *et al.*, 2014).

2.7. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

FTIR adalah instrumen yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dengan cara mengukur interaksi molekul dan radiasi elektromagnetik pada rentang bilangan gelombang 10-14000 cm^{-1} . Spektra IR terbagi menjadi 3 daerah utama antara lain: daerah IR dekat (4000-14000 cm^{-1}), IR tengah (400-4000 cm^{-1}), serta IR jauh (<400 cm^{-1}). Prinsip kerja spektroskopi inframerah didasarkan pada

interaksi radiasi IR dengan sampel dimana sinar akan difokuskan pada sampel oleh interferometer kemudian ditransmisikan dan dideteksi oleh detektor. Gugus fungsi dalam suatu molekul cenderung menyerap radiasi inframerah pada rentang bilangan gelombang yang sama dan puncak spektra diperoleh dari penyerapan perubahan energi vibrasi ikatan di wilayah IR (Davis & Mauer, 2010).

2.8. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen yang berfungsi untuk mengukur energi cahaya dalam rentang ultraviolet (200-400 nm) dan visible (400-800 nm). Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan sinar tampak yang diserap sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Ketika sinar UV-Vis melewati sampel maka sebagian cahaya tersebut diserap dan sebagian lain dipantulkan. Cahaya yang diserap ini menyebabkan elektron berpindah dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi dalam gugus fungsi yang disebut kromofor. Eksitasi elektron dicatat dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan asorbansi kemudian dibaca oleh detektor dan dikonversi menjadi angka digital (Pratiwi & Nandiyanto, 2022)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari - Mei 2023 bertempat di Laboratorium Kimia Fisik Riset Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *beaker glass*, gelas ukur, pipet tetes, erlenmeyer, corong gelas, botol vial, *ultrasonic waterbath*, *microwave*, gelas arloji, spatula, batang pengaduk, neraca analitik, botol semprot, bola hisap, vortex, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 5 mL, mikropipet, labu ukur 5 mL, labu ukur 10 mL, labu ukur 20 mL, pemanas air, tabung reaksi tutup, serta rak tabung reaksi.

3.3.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: teh hitam, aquades, kertas saring, serbuk DPPH, etanol p.a, kalium bromida (KBr), serbuk Mg, HCl pekat, aluminium foil, reagen Mayer, reagen Dragendorff, kloroform, asam sulfat pekat, HCl 1%, FeCl₃ 1%, asam asetat anhidrat, asam askorbat, reagen *Folin-Ciocalteu*, Na₂CO₃, serta asam galat.

3.3. Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi:

1. Optimasi waktu ekstraksi metode ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik.
2. Analisis daya mengembang (*swelling*) secara gravimetri.
3. Penentuan kadar total fenol metode *Folin-ciocalteu*.
4. Pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH.
5. Uji fitokimia menggunakan reagen.
6. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.
7. Analisis data secara statistik.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Ekstraksi Daun Teh

3.4.1.1. Metode Ultrasonik

teh hitam dilarutkan dalam air. Selanjutnya, dilakukan optimasi waktu ekstraksi menggunakan *Ultrasonic Waterbath* dengan variasi waktu. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan difiltrasi menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Ekstrak kasar kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan rumus (Bakht *et al.*, 2019):

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel teh}} \times 100\%$$

3.4.1.2. Metode Kombinasi *Microwave*-Ultrasonik

Metode kombinasi *microwave*-ultrasonik secara berkelanjutan dilakukan dengan cara ekstraksi dengan *microwave* sebagai perlakuan awal kemudian dilanjutkan dengan ultrasonik. Daun teh dilarutkan air. Selanjutnya, dilakukan optimasi waktu ekstraksi menggunakan *microwave* dengan variasi waktu. Ekstraksi

dilanjutkan dengan menggunakan *Ultrasonic Waterbath* pada kondisi waktu optimal. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan difiltrasi menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Ekstrak kasar kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan rumus (Bakht *et al.*, 2019):

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.4.2. Uji Swelling

Pengujian daya mengembang (*swelling*) pada teh hitam dilakukan secara gravimetri dengan cara ditimbang berat awal sampel sebelum ekstraksi kemudian direndam dalam pelarut air dan diekstraksi menggunakan metode ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik. Residu hasil ekstraksi dipisahkan dengan filtrat lalu ditimbang beratnya. Rasio *swelling* (%) ditentukan menggunakan rumus berikut (Hu *et al.*, 2016):

$$\text{Rasio swelling} = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat awal}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

3.4.3. Penentuan Kadar Total Fenol Metode *Folin-Ciocalteu*

3.4.3.1. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara dibuat larutan asam galat konsentrasi 12 ppm kemudian ditambah 2,5 reagen *Folin-Ciocalteu* 10% dan 2 mL larutan Na_2CO_3 10%. Larutan diinkubasi selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600-800 nm (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.3.2. Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar asam galat 100 ppm dibuat dengan cara dilarutkan 1 mg asam galat dalam 10 mL air mendidih kemudian dibuat variasi konsentrasi 2, 4, 8, 12, 16 dan 20 ppm. Sebanyak 1 mL larutan standar asam galat ditambah 2,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 10% dan 2 mL larutan Na_2CO_3 10%. Larutan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi larutan standar asam galat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.3.3. Penentuan Kadar Total Fenol Sampel

Sebanyak 1 mg ekstrak sampel dilarutkan dalam 10 mL air mendidih (konsentrasi 100 ppm) kemudian dimasukkan 1 mL ke dalam tabung reaksi tutup lalu ditambah 2,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 10% dan 2 mL larutan Na_2CO_3 10%. Larutan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Yadav & Agarwala, 2011). Kadar total fenol dapat diketahui dengan cara membuat kurva kalibrasi larutan standar asam galat sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = ax + b$. Penentuan kadar total fenol dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$\text{Kadar total fenol (mgGAE/g)} = \frac{C \cdot v}{m}$$

Keterangan :

x = konsentrasi asam galat

y = absorbansi sampel

C = konsentrasi asam galat (nilai x, mg/mL)

v = volume ekstrak yang digunakan (mL)

a = slope

b = intercept

m = berat ekstrak (g)

3.4.4. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

3.4.4.1. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambah 3 mL etanol p.a. dan ditutup. Larutan divortex selama 2 menit dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

3.4.4.2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

a) Pengukuran serapan larutan kontrol

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambah 3 mL etanol p.a. dan ditutup. Larutan divortex selama 2 menit dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi kontrol diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah diketahui.

b) Pengukuran serapan larutan sampel

Sebanyak 1 mg ekstrak teh hitam dilarutkan dalam 10 mL air mendidih (konsentrasi 100 ppm). Kemudian dibuat variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi tutup dan ditambah 1 mL larutan DPPH 0,2 mM. Larutan divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi masing-masing sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Aktivitas antioksidan dapat diketahui menggunakan rumus berikut (El-Fadl *et al.*, 2020).

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

c) Pengukuran serapan larutan standar asam askorbat

Sebanyak 1 mg asam askorbat dilarutkan dalam 10 mL air mendidih (konsentrasi 100 ppm). Kemudian dibuat variasi konsentrasi 0,2; 0,5; 1, 2, dan 4 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi tutup dan ditambah 1 mL larutan DPPH 0,2 mM. Larutan divortex kembali dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi larutan standar asam askorbat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (El-Fadl *et al.*, 2020).

3.4.5. Uji Fitokimia Menggunakan Reagen

Ekstrak kasar dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian dilakukan analisis secara kualitatif sesuai perlakuan standar (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.5.1. Uji Flavonoid

Ekstrak air dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 50 mg serbuk Mg dan 0,1 mL HCl pekat lalu diamati perubahan warna yang terjadi. Adanya flavonoid ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.5.2. Uji Alkaloid

Ekstrak air dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 5 mL HCl 1%. Larutan disaring dan dibagi menjadi 2 tabung reaksi berbeda. Pada tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer dan tabung reaksi II ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada reagen Mayer dan endapan merah kecoklatan pada reagen Dragendorff (Geoffrey *et al.*, 2014).

3.4.5.3. Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak air dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambah 0,5 mL kloroform, 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 1-2 mL asam sulfat pekat lalu diamati perubahan warna yang terjadi. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna hijau kebiruan sedangkan triterpenoid ditandai dengan warna merah violet (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.5.4. Uji Tanin

Ekstrak air dilarutkan dalam 1 mL air kemudian ditambah 2-3 tetes FeCl_3 1% dan diamati perubahan warna yang terjadi. Adanya tanin galat ditandai dengan perubahan warna hijau atau biru kehitaman (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.5.5. Uji Saponin

Ekstrak air dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambah 5 mL air panas. Larutan dikocok kuat-kuat selama 1 menit dan diamati busa yang terbentuk. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil (Yadav & Agarwala, 2011).

3.4.6. Karakterisasi UV-Vis dan FTIR

3.4.6.1. Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 1 mg ekstrak kasar dalam 20 mL air mendidih kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm untuk daerah UV dan 400-800 nm untuk daerah visible (Aboulwafa *et al.*, 2018).

3.4.6.2. Identifikasi FTIR

Ekstrak kasar dibuat pellet dengan cara dihaluskan terlebih dahulu menggunakan *mortar agate* kemudian dicampur dengan kalium bromida (KBr) hingga homogen. Analisis spektra FTIR sampel pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Aboulwafa *et al.*, 2018).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi Teh Hitam

Proses ekstraksi teh hitam (*Camellia sinensis L.*) dilakukan dengan 2 metode, yaitu ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan bantuan gelombang *ultrasound* sedangkan ekstraksi kombinasi *microwave*-ultrasonik melibatkan gelombang mikro sebagai perlakuan awal kemudian dilanjutkan dengan bantuan gelombang *ultrasound* yang dapat mempercepat proses ekstraksi dan mempercepat pelepasan target dari matriks (Prasetyaningrum *et al.*, 2022).



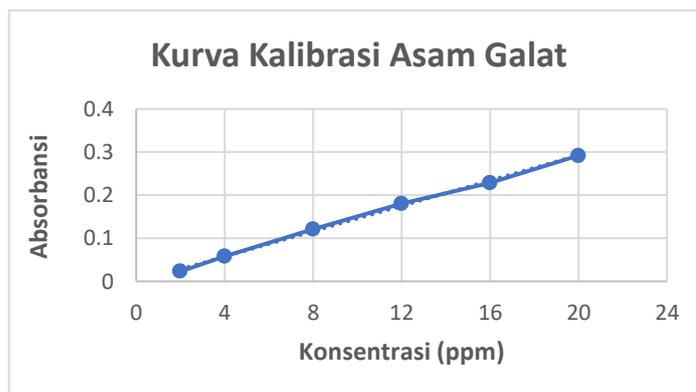
Gambar 4.1. Sampel teh hitam

Variasi waktu ekstraksi metode ultrasonik Masing-masing sampel ditentukan kadar total fenol dan uji aktivitas antioksidan terlebih dahulu untuk mengetahui kondisi optimalnya. Setelah itu, dilakukan ekstraksi kombinasi *microwave*-ultrasonik dengan variasi waktu *microwave* kemudian dimasukkan dalam *ultrasonic waterbath* pada kondisi waktu optimal sebanyak tiga kali pengulangan. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipisahkan antara pelarut dengan zat yang diekstrak dengan cara *freeze drying* sehingga diperoleh serbuk kering. Serbuk kering inilah yang kemudian dihitung rendemennya.

Data diatas menunjukkan bahwa kenaikan rendemen pada metode ekstraksi ultrasonik berbanding lurus dengan rasio *swelling* atau kemampuan mengembang sampel. Hal ini dikarenakan selama proses ekstraksi, terjadi proses rusaknya dinding sel yang mengakibatkan pelarut masuk ke dalam sel sehingga sampel akan mengembang kemudian pecah dan mengeluarkan senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Semakin besar nilai rasio *swelling* maka semakin besar pula kemampuan sampel untuk menyerap air. Adapun peningkatan rendemen disebabkan semakin lama waktu ekstraksi maka akan memberikan kerusakan pada dinding sel semakin besar sehingga pelarut dapat membilasi seluruh isi sel dan kelarutan bahan akan terus meningkat seiring bertambahnya waktu ekstraksi hingga timbulnya kejenuhan pada pelarut (Sah, 2016). Namun, rendemen hasil ekstraksi yang tinggi belum tentu berkorelasi positif terhadap komponen senyawa aktif yang diinginkan karena pada rendemen tersebut dapat saja memiliki kandungan metabolit primer (polisakarida, protein, lipid) yang besar dan menurunkan presentase komponen metabolit sekunder (Simic *et al.*, 2016).

4.2. Penetapan Kadar Total Fenol

Penetapan kadar total fenol pada ekstrak teh hitam dilakukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan cara mengukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan standar yang digunakan yaitu asam galat dengan variasi konsentrasi 2, 4, 8, 12, 16, dan 20 ppm sehingga diperoleh kurva kalibrasi sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.2. Kurva kalibrasi asam galat

Gambar 4.2. menunjukkan kadar total fenol menghasilkan persamaan regresi dengan nilai $R^2 = 0,998$. Nilai R atau koefisien korelasi ini menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi asam galat (sumbu x) dengan nilai absorbansi (sumbu y) dimana jika nilai koefisien korelasi antara $>0,75-0,99$ maka dapat dikategorikan berkorelasi sangat kuat (Verdiana, *et al.*, 2018). Kadar total fenol yang diukur akan setara dengan massa ekuivalen asam galat atau GAE (*Gallic acid equivalent*).

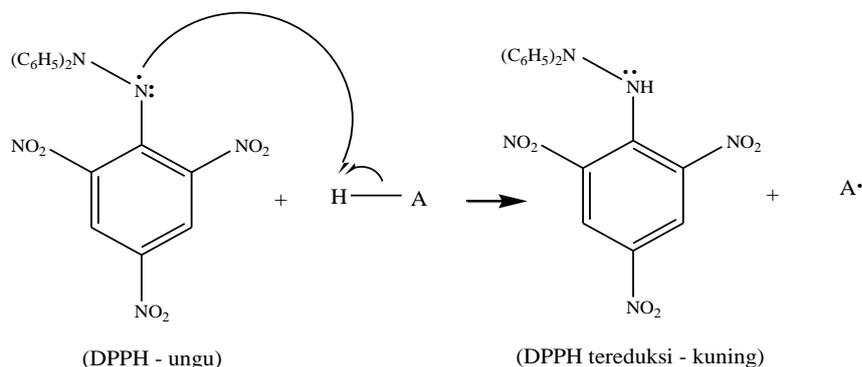
Hal ini dikarenakan adanya penambahan gelombang mikro yang memberikan efek pemanasan internal dalam sel dan meningkatkan suhu ekstraksi. Suhu yang tinggi mampu melepaskan senyawa fenol dari dinding sel disebabkan oleh rusaknya unsur-unsur sel menyebabkan semakin banyak senyawa fenol yang terekstrak (Soehendro *et al.*, 2015).

Kadar total fenol pada ekstrak akan meningkat seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi. Peningkatan total fenol akibat lama waktu ekstraksi dapat merusak dinding sel untuk mengeluarkan fenol dari jaringan tanaman. Hal ini menyebabkan senyawa fenolik dari sel yang berbeda mengalami lisis sehingga konsentrasinya dapat meningkat (Mahardani & Yuanita, 2021). Pada umumnya kelarutan senyawa aktif akan menghasilkan ekstrak yang optimum dengan meningkatnya suhu dan

waktu ekstraksi yang digunakan. Semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan suhu semakin tinggi, demikian pula kelarutan senyawa fenol dalam pelarut juga semakin besar.

4.3. Uji Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat radikal bebas. Aktivitas antioksidan ini dapat diukur menggunakan metode DPPH dimana sampel dan asam askorbat sebagai pembanding dengan variasi konsentrasi 0,2; 0,5; 1, 2, dan 4 ppm direaksikan dengan radikal bebas DPPH kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH atau *diphenylpicrylhydrazil* membentuk *diphenylpicrylhydrazine* yang bersifat non-radikal. Hasil dari pengujian metode ini diinterpretasikan sebagai nilai IC_{50} yang diperoleh melalui persamaan regresi linier $y = ax + b$ (Lampiran 4.4).



Gambar 4.3. Reaksi DPPH dengan antioksidan (Musdalifah, 2016)

Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar. Penurunan nilai IC_{50} disebabkan adanya proses donor elektron antara antioksidan dan elektron radikal bebas DPPH. Hasil ini berbanding lurus dengan kadar total fenol yang dihasilkan. Semakin besar kadar

total fenol maka aktivitas antioksidannya semakin besar karena adanya ketersediaan senyawa fenolik atau dengan pembentukan senyawa baru dengan sifat antioksidan yang terbentuk selama proses pemanasan (Demak *et al.*, 2017). Menurut Fauzi *et al.*, (2016) kandungan senyawa polifenol dalam daun teh dapat menghambat terjadinya dampak reaksi yang ditimbulkan oleh proses autooksidasi. Senyawa fenolik mengandung gugus hidroksil yang memiliki kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen sehingga radikal bebas DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Semakin banyak gugus hidroksil maka semakin banyak atom hidrogen yang dapat bereaksi dengan radikal bebas DPPH sehingga akan semakin besar aktivitas antioksidannya (Hasan *et al.*, 2022). Namun demikian, ketika kondisi ekstraksi telah mencapai kondisi optimum, maka aktivitas antioksidan akan menurun seiring dengan penurunan senyawa yang bersifat antioksidan sehingga mengakibatkan kenaikan nilai IC_{50} . Kenaikan nilai IC_{50} ini dapat disebabkan karena berkurangnya senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan karena pengaruh suhu tinggi. Menurut Komala & Husni (2021) penggunaan ekstraksi dengan suhu yang terlalu tinggi dapat berpengaruh pada kerusakan senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik yang mengalami proses oksidasi pada suhu tinggi sehingga dapat menurunkan aktivitas penghambatan radikal bebas.

Menurut Molyneux (2004) klasifikasi antioksidan dibagi menjadi 5, yaitu <50 ppm (sangat kuat), 50-100 ppm (kuat), 100-150 ppm (sedang), 150-200 ppm (lemah) dan >200 ppm (sangat lemah). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak teh hitam baik menggunakan metode ekstraksi ultrasonik maupun kombinasi *microwave*-ultrasonik tergolong kategori antioksidan sangat kuat. Nilai IC_{50} yang

diperoleh pada kondisi optimal masing-masing ekstraksi kemudian dibandingkan dengan asam askorbat (vitamin C) sebagai kontrol positif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan sampel jika dibandingkan dengan senyawa antioksidan murni.

Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan masing-masing metode ekstraksi memiliki kemampuan menghambat aktivitas radikal bebas tidak lebih baik dari asam askorbat. Namun demikian, hasil kedua metode ekstraksi menunjukkan konsentrasi tersebut tergolong kategori sangat kuat untuk menghambat radikal bebas. Asam askorbat merupakan senyawa antioksidan alami yang tergolong antioksidan sekunder sehingga aktivitasnya tidak akan dipengaruhi senyawa lain.

4.4. Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan skrining awal yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada sampel teh hitam yang didasarkan pada pengujian warna atau busa setelah penambahan suatu pereaksi (Kristanti *et al.*, 2008). Pengujian ini dilakukan pada ekstrak dengan kondisi optimal yaitu metode ultrasonik pada waktu 45 menit sedangkan kombinasi *microwave*-ultrasonik pada waktu *microwave* 4 menit dan ultrasonik 45 menit. Kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak teh hitam metode ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik

Kandungan senyawa fitokimia teh hitam pada ekstraksi ultrasonik menunjukkan hasil (+) pada senyawa flavonoid, steroid, tanin dan saponin. Sementara itu, pada ekstraksi kombinasi *microwave*-ultrasonik beberapa senyawa yang bereaksi positif yaitu flavonoid, triterpenoid, tanin dan saponin. Hasil

pengujian fitokimia pada kedua metode ekstraksi menunjukkan tidak mengandung senyawa alkaloid yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan pada saat ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Hasil ini sesuai dengan penelitian Nazliniwaty, *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa teh (*Camellia sinensis* L. Kuntze) mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid.

Menurut Nuryani, *et al.* (2018) pemilihan pelarut dan metode ekstraksi akan mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstrak. Suhu dan tekanan yang berbeda diantara kedua metode ekstraksi ini dapat menyebabkan beberapa senyawa aktif mengalami oksidasi sehingga mengakibatkan perubahan struktur. Sebagian besar terpenoid mudah menguap dengan adanya uap air panas. Penambahan ekstraksi *microwave* sebagai perlakuan awal mampu meningkatkan konstanta dielektrik pelarut sehingga pemanasan yang dihasilkan semakin cepat. Pada pemanasan, kebanyakan terpenoid menghasilkan isoprene sebagai salah satu produknya (Julianto, 2019).

4.5. Karakterisasi UV-Vis dan FTIR

4.5.1. Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak teh hitam masing-masing metode diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimalnya pada rentang 200 – 800 nm. Beberapa gugus kromofor menunjukkan panjang gelombang maksimum yang dapat dipakai sebagai petunjuk untuk identifikasi suatu gugus fungsi secara kasar.

Ekstrak teh hitam metode kombinasi *microwave*-ultrasonik pada waktu optimal menunjukkan puncak spektra yang relatif sama dengan ekstrak metode ultrasonik pada waktu optimal. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ekstraksi menggunakan *microwave* sebagai perlakuan awal dikombinasikan dengan metode ultrasonik tidak menghilangkan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak metode ultrasonik.

4.5.2. Identifikasi FTIR

Ekstrak teh hitam dari metode ekstraksi ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik juga dilakukan identifikasi menggunakan FTIR untuk memperkuat dugaan gugus fungsinya. Analisis ini akan menghasilkan spektrum berupa pita serapan yang khas pada berbagai bilangan gelombang tertentu pada sampel yang diukur.

Ekstraksi metode ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik pada waktu optimal masing-masing metode ekstraksi memiliki puncak yang relatif sama. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ekstraksi menggunakan *microwave* sebagai perlakuan awal dikombinasikan dengan metode ultrasonik tidak menghilangkan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak metode ultrasonik.

Adanya gugus metil (CH_3) memberikan kontribusi untuk menarik senyawa-senyawa nonpolar seperti terpenoid, asam-asam lemak, steroid, dan beberapa senyawa kumarin. Sementara itu, gugus OH berperan dalam menarik senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran tinggi seperti flavonoid, saponin, polifenol, dan beberapa alkaloid (Sukandar *et al.*, 2019).

4.6. Pemanfaatan Teh Hitam dalam Perspektif Islam

Teh hitam merupakan salah satu jenis tumbuhan yang sering dikonsumsi sebagai minuman dalam kehidupan sehari-hari. Teh hitam memiliki banyak

manfaat karena mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan yang berperan untuk menangkal radikal bebas dalam tubuh. Salah satu golongan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu fenol. Allah SWT. menciptakan semua makhluk hidup yang ada di bumi dengan manfaat dan tujuan masing-masing baik tumbuhan, hewan, manusia, dan sebagainya. Allah SWT. berfirman dalam Q.S. Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمٰوٰتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَّرَوٰهَا وَالْقٰى فِي الْاَرْضِ رَوٰسِيًّۙ اَنْ تَمِيْدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيْهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍۙ وَاَنْزَلْنَا مِنْ السَّمٰءِ مَآءًۙ فَاَنْبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍۙ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi) tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”. (Q.S. Luqman: 10)

Tafsir al-Misbah: Firman-Nya: (بِغَيْرِ عَمَدٍ تَّرَوٰهَا) *bighayri ‘amadin taraunaha/*

tanpa tiang yang kamu melihatnya dalam arti sebenarnya tiangnya ada tetapi kamu tidak melihatnya dengan mata kepala. Tiang tersebut adalah daya-daya yang diciptakan Allah, sehingga ini dapat meninggi dan tidak jatuh ke bumi. Tidak juga planet-planet yang ada di alam raya ini saling bertabaran. Kemudian Firman-Nya:

(وَاَنْزَلْنَا مِنْ السَّمٰءِ مَآءًۙ) *wa anzalna min as-sama ‘im a ‘an/* Kami turunkan air dari langit

menggunakan bentuk persona pertama (Kami), sedang redaksi sebelumnya yang

berbunyi: (وَبَثَّ فِيْهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍۙ) *wa batstsa fiha min kulli dabbah/* dan Dia

mengembangbiakkan di sana segala jenis binatang menggunakan persona ketiga (Dia). Pengalihan bentuk ini, agaknya untuk menggarisbawahi pentingnya air

sebagai sumber hidup manusia. Kata (كَرِيْمٍۙ) *karim* digunakan untuk menyifati segala

sesuatu yang baik sesuai obyeknya. Rizqi yang karim adalah yang banyak, halal

dan bermanfaat. Pasangan tumbuhan yang karim adalah yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamannya.

Melalui ayat ini, Allah SWT. menjelaskan tentang kekuasaan-Nya yang agung dalam menciptakan langit dan bumi beserta segala isinya. Begitu besarnya kekuasaan Allah sehingga gunung-gunung dapat menancap dalam bumi dengan kokoh. Dengan semua itu, diharapkan manusia dapat menyadari kuasa Allah. Ketika Allah telah menetapkan bahwa Dia adalah Mahapencipta, maka Dia pun mengingatkan bahwa Dia adalah Maha pemberi rizki dengan menciptakan dan mengembangbiakkan segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik ialah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup baik bagi hewan, manusia, maupun makhluk hidup lainnya. Seperti halnya tanaman teh yang memiliki banyak kandungan senyawa aktif dan berkhasiat bagi tubuh khususnya sebagai antioksidan untuk mencegah berbagai macam penyakit degeneratif.

Allah SWT. menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini tidak dengan sia-sia seperti halnya Allah menciptakan tanaman teh dengan berbagai manfaat dan khasiat yang terkandung didalamnya. Allah SWT. berfirman dalam Q.S. An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: “*Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan*”. (Q.S. An-Nahl: 11)

Tafsir al-Misbah: Ayat ini menyebut beberapa yang paling bermanfaat atau populer dalam masyarakat Arab tempat di mana turunnya al-Qur’an, dengan menyatakan bahwa *Dia* yakni Allah swt. *menumbuhkan bagi kamu dengannya* yakni dengan air hujan itu *tanaman-tanaman*; dari yang paling cepat layu sampai

dengan yang paling panjang usianya dan paling banyak manfaatnya. Dia menumbuhkan *zaitun*, salah satu pohon yang paling panjang usianya, demikian juga *kurma*, yang dapat dimakan mentah atau matang, mudah dipetik dan sangat bergizi lagi berkalori tinggi, juga *anggur* yang dapat kamu jadikan makanan yang halal atau minuman yang haram *dan dari segala macam* atau sebagian *buah-buahan*, selain yang disebut itu. *Sesungguhnya pada yang demikian* yakni pada curahan hujan dan akibat-akibatnya itu *benar-benar ada tanda* yang sangat jelas bahwa yang mengaturnya seperti itu adalah Maha Esa lagi Maha Kuasa.

Ayat ini menjelaskan tentang kenikmatan yang telah Allah berikan pada makhluk hidup di bumi melalui air hujan yang mampu menumbuhkan tanaman dan buah-buahan sebagai petunjuk atas kekuasaan Allah bagi kaum yang memikirkan ciptaan-Nya lalu menjadikannya sebagai bukti kemahaagungan Allah SWT. Sebagai makhluk yang berakal, manusia dikaruniai kemampuan untuk berpikir tentang ciptaan-Nya dengan memanfaatkan segala yang telah Allah karuniakan kepadanya di bumi. Salah satunya yaitu memanfaatkan teh hitam yang mengandung banyak manfaat bagi tubuh. Teh hitam tidak hanya baik untuk dikonsumsi tetapi juga dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai sediaan herbal yang dapat dijadikan alternatif untuk mencegah berbagai macam penyakit. Oleh karena itu, penting bagi kita untuk berpikir akan tanda-tanda kekuasaan Allah dan mengembangkan potensi yang dimiliki oleh alam melalui ilmu pengetahuan dan sains sehingga dapat dimanfaatkan oleh generasi selanjutnya baik sebagai bahan pangan maupun obat tradisional.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

1. Ekstraksi teh hitam menggunakan metode kombinasi *microwave*-ultrasonik dibanding ekstraksi metode ultrasonic.
2. Daya mengembang (*swelling*) residu teh hitam metode kombinasi *microwave*-ultrasonik memiliki kemampuan menyerap air lebih besar dibanding ekstraksi ultrasonik.
3. Hasil karakterisasi menggunakan UV-Vis dan FTIR ekstrak teh hitam metode ultrasonik dan kombinasi *microwave*-ultrasonik pada waktu optimal menunjukkan puncak spektrum UV-Vis dan FTIR yang relatif sama sehingga penambahan ekstraksi *microwave* tidak menghilangkan kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak metode ultrasonik.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membandingkan jenis pelarut, rasio bahan:pelarut dan daya *microwave* terhadap kadar total fenol dan aktivitas antioksidan sehingga dapat menambah informasi terkait kondisi optimal dari teh hitam sebagai sediaan herbal. Selain itu, perlu dilakukan karakterisasi menggunakan LC-MS untuk memberikan informasi terkait berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboulwafa, M. M., Youssef, F. S., Gad, H. A., Sarker, S. D., Nahar, L., Al-Azizi, M. M., & Ashour, M. L. (2018). Authentication and discrimination of green tea samples using UV–vis, FTIR and HPLC techniques coupled with chemometrics analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *164*, 653–658.
- Abubakar, A. N. F. (2016). *Triterpenoid Biji Alpukat (Persea americana) dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 dan Hati HepG2*. Institut Pertanian Bogor.
- Al-Qurthubi, S. I. (2014). *Tafsir Al Qurthubi*. Pustaka Azzam.
- Ardila, T. T. (2020). *Uji Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Daun Teh (Camellia sinensis) Berdasarkan Tahun Pangkas di Kebun Teh Wonosari Lawang*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ariandi, Y., Baroh, I., & Ibrahim, J. T. (2019). Analisis Trend Ekspor Teh Indonesia. *Journal of Agricultural Socioeconomics and Business*, *02*(01), 23–31.
- Astawan, M., & Kasih, A. L. (2008). *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Gramedia Pustaka Utama.
- Asy-Syuyuthi, J., & Al-Mahalliy, J. M. I. A. (2015). *Tafsir Jalalain*. Pustaka eLBA.
- Atomsa, T., & Gholap, A. V. (2015). Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-Visible Spectrometer. *Journal of Enginerring and Technology Research*, *7*(1), 22–31.
- Bakht, M. A., Geesi, M. H., Riadi, Y., Imran, Mohd., Imtiyaz Ali, Md., Ahsan, M. J., & Ajmal, N. (2019). Ultrasound-assisted extraction of some branded tea: Optimization based on polyphenol content, antioxidant potential and thermodynamic study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(5), 1043–1052.
- Cahyani, Y. N. (2015). *Perbandingan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kopi Robusta (Coffea canephora) dan Arabika (Coffea arabica)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 540–560.

- Daniel. (2010). Isolasi Senyawa Fenolik Pada Fraksi Metanol-Air Dari Umbi Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia tuberosa* Jack). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(1), 1–6.
- Davis, R., & Mauer, L. J. (2010). Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 2, 1582–1594.
- Demak, P. U. K., Suryanto, E., & Pontoh, J. (2017). Efek Pemanggangan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenolik dari Jagung Manado Kuning. *Chemistry Progress*, 10(1), 19–23.
- El-Fadl, S. R. A., Osman, A., Al-Zohairy, A., Dahab, A., & Abo El Kheir, Z. (2020). Assessment of Total Phenolic, Flavonoid Content, Antioxidant Potential and HPLC Profile of Three Moringa Species Leaf Extracts. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 7(1), 53–70.
- Fasya, A. G., Purwantoro, B., Ulya, L. H., & Ahmad, M. (2020). Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. *ALCHEMY*, 8(1), 23–34.
- Fauzi, A., Surti, T., & Rianingsih, L. (2016). Efektivitas Daun Teh (*Camellia sinensis*) sebagai Antioksidan Pada Fillet Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forsk.) Selama Penyimpanan Dingin. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Pertanian*, 5(4), 1–10.
- Gajić, I., Stanojević, L., Dinić, A., Stanojević, J., Nikolić, L., Nikolić, V., & Savić, V. (2020). The chemical composition of the essential oil and volatile compounds from caraway fruit (*Carum carvi* L.) extracted by headspace-solid phase microextraction and the antioxidant activity. *Advanced Technologies*, 9(1), 37–43.
- Garcia-Vaquero, M., Ummat, V., Tiwari, B., & Rajauria, G. (2020). Exploring Ultrasound, Microwave and Ultrasound–Microwave Assisted Extraction Technologies to Increase the Extraction of Bioactive Compounds and Antioxidants from Brown Macroalgae. *Marine Drugs*, 18(3), 172.
- Geoffrey, K. K., John, K. M., Naomi, M., & Simon, K. M. (2014). Qualitative Phytochemical Screening of *Camellia sinensis* and *Psidium guajava* Leaf Extracts from Kericho and Baringo Counties. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR)*, 5(3), 506–512.
- Hakim, S., & Ismail, S. A. (2020). *Thibbun Nabawi: Tinjauan Syariat dan Medis. Gema Insani*.

- Handayani, D., Mun'im, A., & Ranti, A. S. (2014). Optimasi Ekstraksi Ampas Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction Untuk Menghasilkan Ekstrak Teh Hijau. *Traditional Medicine Journal*, 19(1).
- Haq, M. S., Mastur, A. I., & Karyudi, D. H. (2016). Pruning technique and foliar fertilizer application to improve yield of pecco in fourth pruning year of tea plant. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 19(1), 7–14.
- Hartini, V. A., Anam, K., & Cahyono, B. (2012). Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Ketapang Kencana (*Terminalia Muelleri Benth*) dan Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15(2), 47–52.
- Hasan, H., Ain Thomas, N., Hiola, F., & Ibrahim, A. S. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(3), 67–73.
- Herlina, & Wardani, R. A. (2019). Efektivitas Formulasi Teh Herbal untuk Menurunkan Resiko Gangguan Penyakit Tidak Menular. *Jurnal Keperawatan*, 12(1), 24–34.
- Horžić, D., Jambrak, A. R., Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., & Lelas, V. (2012). Comparison of Conventional and Ultrasound Assisted Extraction Techniques of Yellow Tea and Bioactive Composition of Obtained Extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2858–2870.
- Hu, B., Li, C., Qin, W., Zhang, Z., Liu, Y., Zhang, Q., Liu, A., Jia, R., Yin, Z., Han, X., Zhu, Y., Luo, Q., & Liu, S. (2019). A method for extracting oil from tea (*Camellia sinensis*) seed by microwave in combination with ultrasonic and evaluation of its quality. *Industrial Crops and Products*, 131, 234–242.
- Hu, C. J., Gao, Y., Liu, Y., Zheng, X.-Q., Ye, J.-H., Liang, Y.-R., & Lu, J.-L. (2016). Studies on the mechanism of efficient extraction of tea components by aqueous ethanol. *Food Chemistry*, 194, 312–318.
- Ilyas, A., Novianty, I., & Irmayanti, I. (2015). Senyawa Golongan Steroid dari Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Kayu Bitti (*Vitex cofassus*) dan Uji Toksisitas Terhadap *Artemia salina* Leach. *Chimica et Natura Acta*, 3(3), 119–123.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Universitas Islam Indonesia.

- Junaidi, Sulistiya, A., Surtono, A., Supriyanto, A., & Warsito. (2020). A frequency generator of 40-60 kHz based on arduino for ultrasonic cleaner applications. *Journal of Physics: Conference Series*, 1572(1), 012014.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(7), 377–392.
- Kautsari, S. N., Humaedi, A., Wijayanti, D. R., & Safaat, M. (2021). Kadar Total Fenol dan Flavonoid Ekstrak Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Melalui Metode Ekstraksi Microwave. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), 96.
- Khopkar, S. M. (2008). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia Press.
- Khurshid, Z., Zafar, M. S., Zohaib, S., Najeeb, S., & Naseem, M. (2016). Green Tea (*Camellia Sinensis*): Chemistry and Oral Health. *The Open Dentistry Journal*, 10(1), 166–173.
- Komala, P. T. H., & Husni, A. (2021). Pengaruh Suhu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik *Eucommia spinosum*: Effect of Extraction Temperature on Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Eucommia spinosum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 1–10.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press.
- Lelita, D. I., Rohadi, M.P., & Putri, A.S. (2018). Sifat Antioksidatif Ekstrak Teh (*Camellia Sinensis* Linn.) Jenis Teh Hijau, Teh Hitam, Teh Oolong dan Teh Putih dengan Pengeringan Beku (Freeze Drying). *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Penelitian*, 13(1), 15–30.
- Liaqid, A., Palma, M., Brigui, J., & Barroso, C. G. (2007). Investigation on Phenolic Compounds Stability during Microwave-assisted Extraction. *Journal of Chromatography A*, 1140(1–2), 29–34.
- Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 64–78.

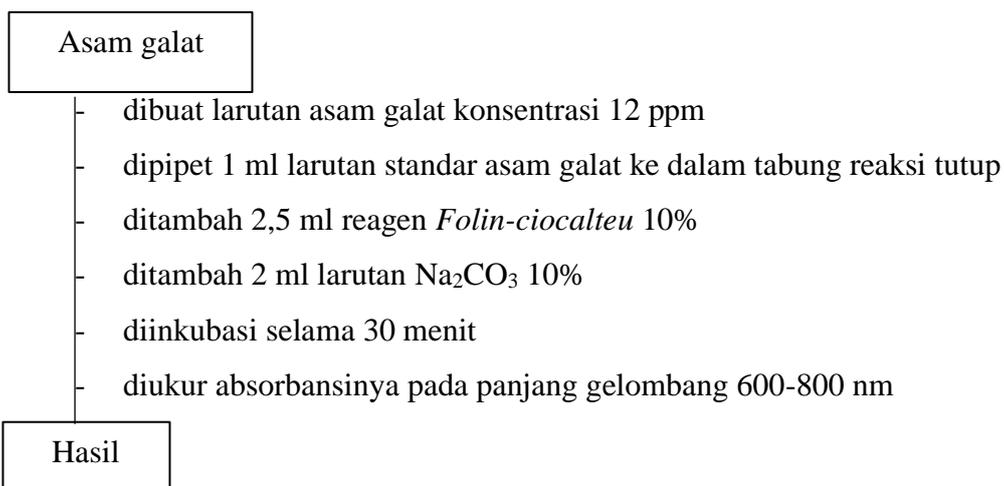
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Muhaimin, M., Ningsih, K. N., & Latief, M. (2021). Senyawa Turunan Terpenoid dari Ekstrak Aseton Daun Perepat (*Sonneratia alba*) dan Aktivasnya Terhadap *Escherichia coli*. *Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry*, 13(2), 75–83.
- Munawwaroh, M. J. (2019). *Sintesis dan Karakterisasi Beads Alginat-Karboksimetil Selulosa dari Batang Jagung Menggunakan Variasi CaCl₂*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Musdalifah. (2016). *Penentuan Suhu dan Waktu Optimum Penyeduhan Daun Teh Hijau (Camellia Sinensis L.) P+3 Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin dan Katekin*. UIN Alauddin Makassar.
- Nazliniwaty, ., Hanum, T. I., & Laila, L. (2018). Antioxidant Activity Test of Green Tea (*Camellia sinensis L. Kuntze*) Ethanolic Extract using DPPH Method: *Proceedings of the International Conference of Science, Technology, Engineering, Environmental and Ramification Researches*, 752–754.
- Nuryani, S. A., Lestari, S. D., & Baehaki, A. (2018). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Teh Daun Daruju (*Acanthus illicifolius*). *Jurnal Fishtech*, 7(1), 27–35.
- Oleszek, W. A. (2002). Chromatographic determination of plant saponins. *Journal of Chromatography A*, 967(1), 147–162.
- Prasetyaningrum, A., Jos, B., Ratnawati, R., Rokhati, N., Riyanto, T., & Prinanda, G. R. (2022). Sequential Microwave-Ultrasound Assisted Extraction of Flavonoid from *Moringa oleifera*: Product Characteristic, Antioxidant and Antibacterial Activity. *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(1), 303–316.
- Pratiwi, R. A., & Nandiyanto, A. B. D. (2022). How to Read and Interpret UV-VIS Spectrophotometric Results in Determining the Structure of Chemical Compounds. *Indonesian Journal of Educational Research and Technology*, 2(1), 1–20.
- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513–523.

- Radam, R. R., & Purnamasari, E. (2016). Uji Fitokimia Senyawa Kimia Aktif Akar Nipah (*Nyfa Fruticans* Wurm) sebagai Tumbuhan Obat di Kalimantan Selatan. *Jurnal Hutan Tropis*, 4(1), 28–34.
- Raharjo, T. J. (2013). *Kimia Hasil Alam*. Pustaka Pelajar.
- Rohdiana, D. (2015). Teh: Proses, Karakteristik & Komponen Fungsionalnya. *Foodreview Indonesia*, X(8), 34–37.
- Sah, S. Y. (2016). *Pengaruh Metode Ekstraksi dan Waktu Ekstraksi Terhadap Beta Karoten Mikroalga (*Dunaliella sp.*)*. Universitas Brawijaya.
- Salimi, Y. K. (2021). *Daun Miana Sebagai Antioksidan dan Antikanker*. Yayasan Pendidikan dan Sosial Indonesia Maju (YPSIM).
- Shihab, M. Q. (2005). *Tafsir al-Mishbāh: Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an* (Cet. 6). Lentera Hati.
- Simic, V. M., Rajkovic, K. M., Stojicevic, S. S., Velickovic, D. T., Nikolic, N. C., Lazic, M. L., & Karabegovic, I. T. (2016). Optimization of Microwave-assisted extraction of Total Polyphenolic Compounds from Chokeberries by Response Surface Methodology and Artificial Neural Network. *Separation and Purification Technology*, 160, 89–97.
- Soehendro, A. W., Manuhara, G. J., & Nurhartadi, E. (2015). Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Dengan Pelarut Metanol dan Air. *Jurnal Teknosains Pangan*, IV(4), 15–24.
- Sukandar, D., Aminudin, I., & Rudiana, T. (2019). *Identifikasi Senyawa Aktif Antioksidan Dari Tanaman Pangan Fungsional Masyarakat Jawa Barat dan Banten dengan Pendekatan Metabolomik*. Pusat Penelitian dan Penerbitan UIN Syarif Hidayatullah.
- Syaikh, A. bin M. A. (2018). *Tafsir Ibnu Katsir: Terjemah kitab Lubabut Tafsir min Ibni Katsir* (Jilid 5). Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Wang, T., Li, W., & Li, T. X. (2017). Microwave-Ultrasonic Synergistic Extraction of Crude Se-Polysaccharides from Se-Enriched Tea. *Key Engineering Materials*, 737, 360–366.

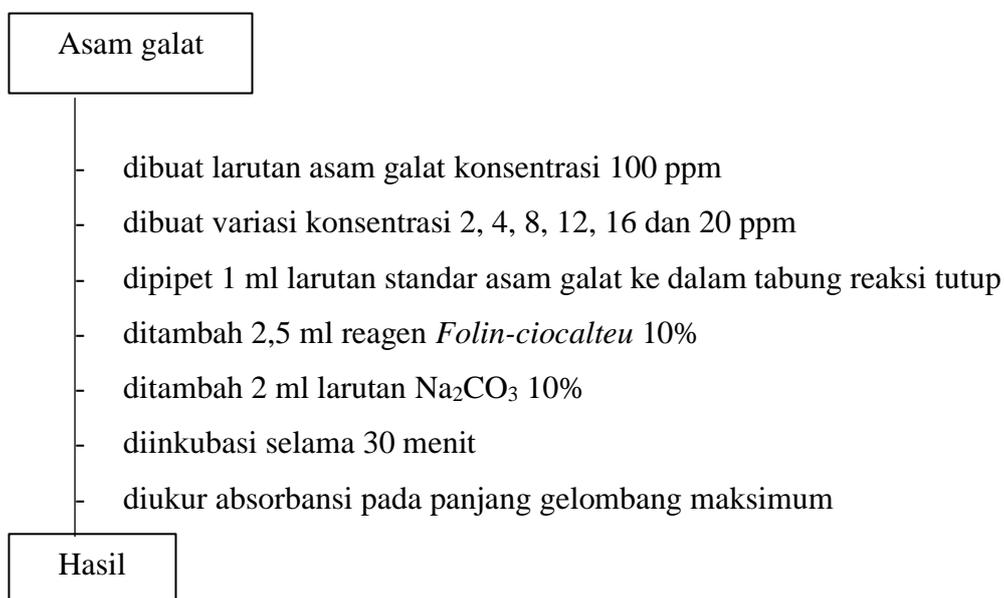
- Wibisono, A., & Kunarto, B. (2021). Pengaruh Lama Waktu Penyeduhan Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Berbantu Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Mahasiswa, Food Technology and Agricultural Products*.
- Wulandari, R. (2021). *Manfaat dan Khasiat Teh, Kopi, Susu, dan Gula*. Rapha Publising.
- Yadav, R., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12), 10–14.
- Yingngam, B., Monschein, M., & Brantner, A. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Cratoxylum formosum* ssp. *Formosum* leaves using central composite design and evaluation of its protective ability against H₂O₂-induced cell death. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, S497–S505.
- Yu, J., Lou, Q., Zheng, X., Cui, Z., & Fu, J. (2017). Sequential Combination of Microwave- and Ultrasound-Assisted Extraction of Total Flavonoids from *Osmanthus fragrans* Lour. Flowers. *Molecules*, 22(12), 2216.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.

L.2.3 Penentuan Kadar Total Fenol Metode *Folin-Ciocalteu*

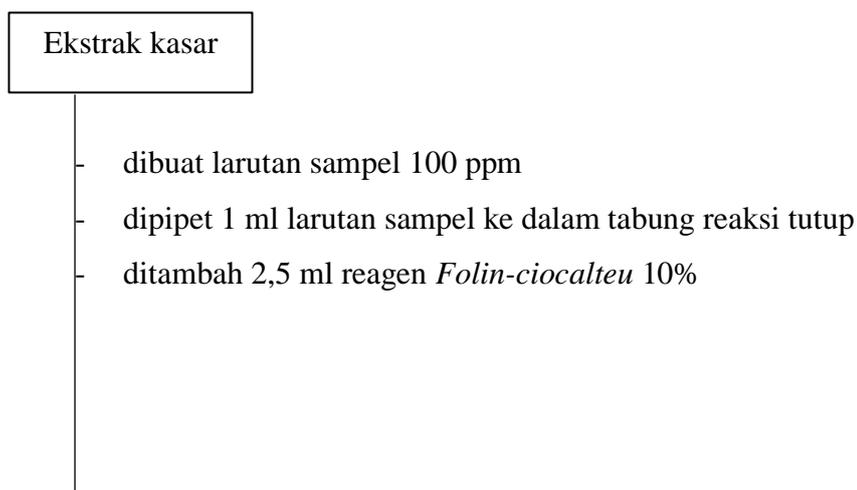
L.2.3.1 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum



L.2.3.2 Pengukuran Larutan Standar Asam Galat



L.2.3.3 Penentuan Kadar Total Fenol Sampel



- ditambah 2 ml larutan Na_2CO_3 10%
- diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar
- diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum

Hasil

L.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

L.2.4.1 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

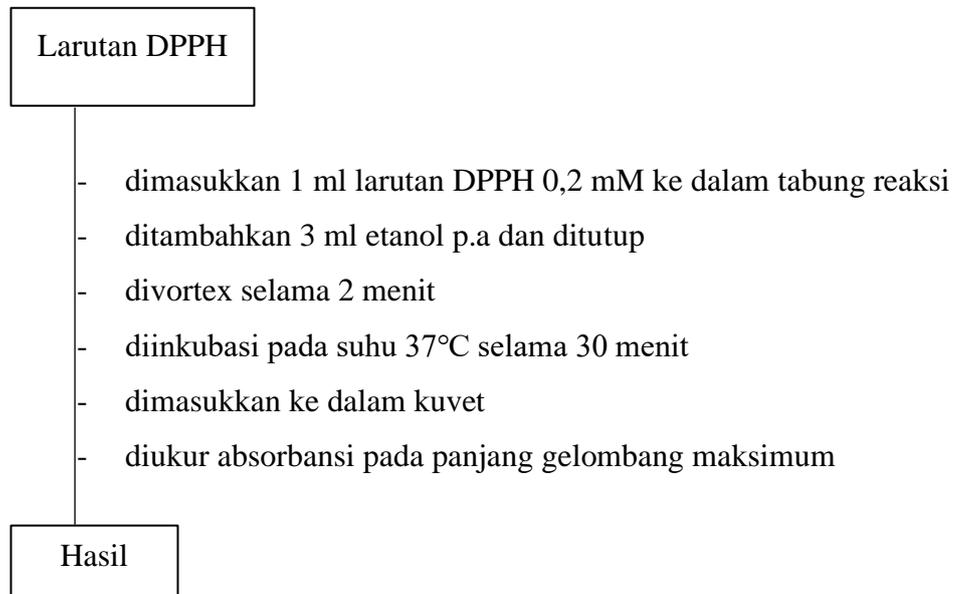
Larutan DPPH

- dimasukkan 1 ml larutan DPPH 0,2 mM ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 3 ml etanol p.a dan ditutup
- divortex selama 2 menit
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit
- dimasukkan ke dalam kuvet
- diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm

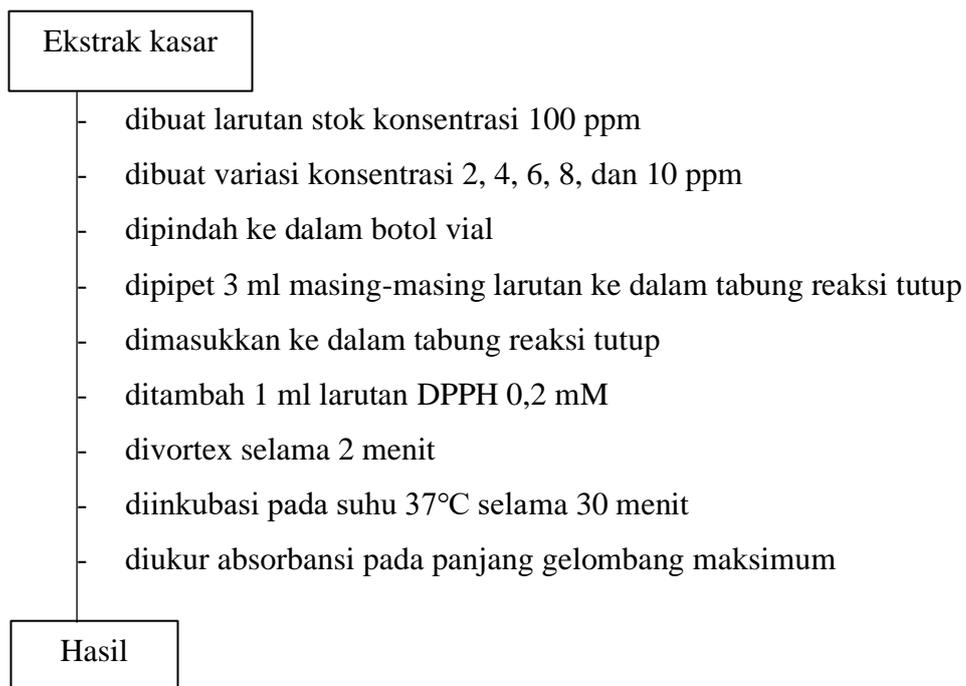
Hasil

L.2.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

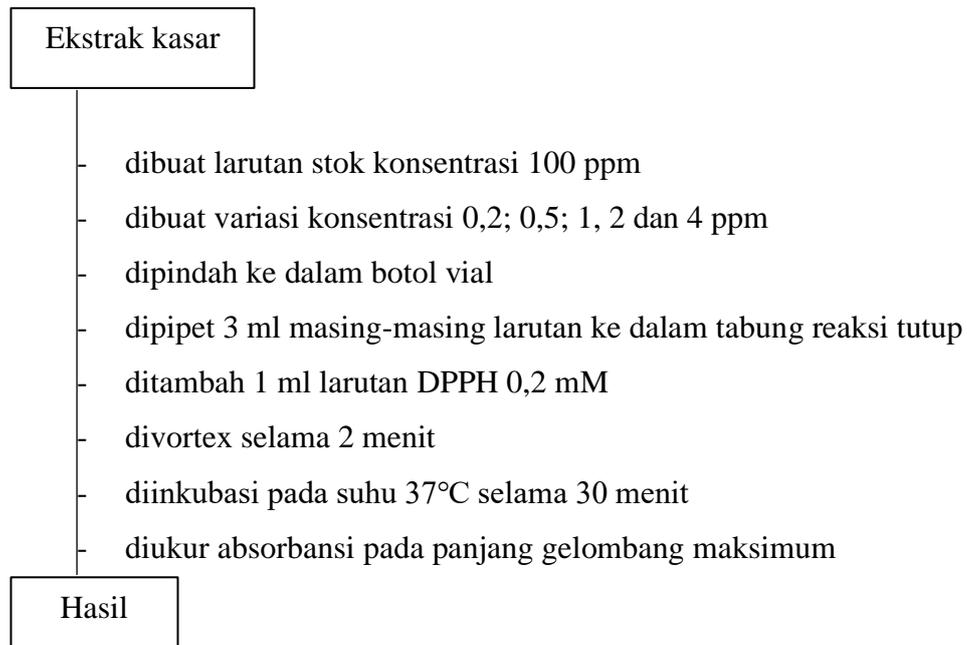
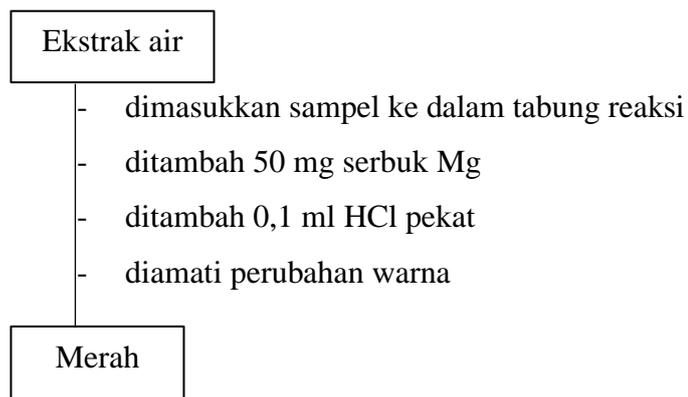
a). Pengukuran serapan larutan kontrol



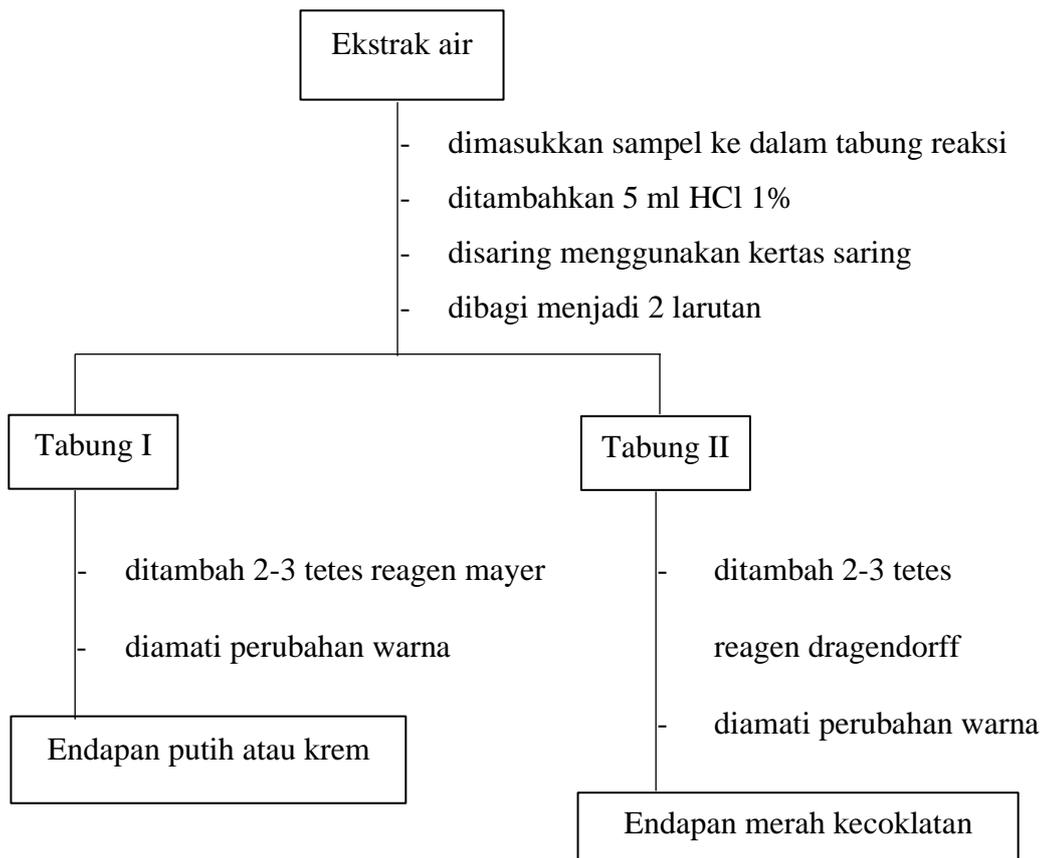
b). Pengukuran serapan larutan ekstrak



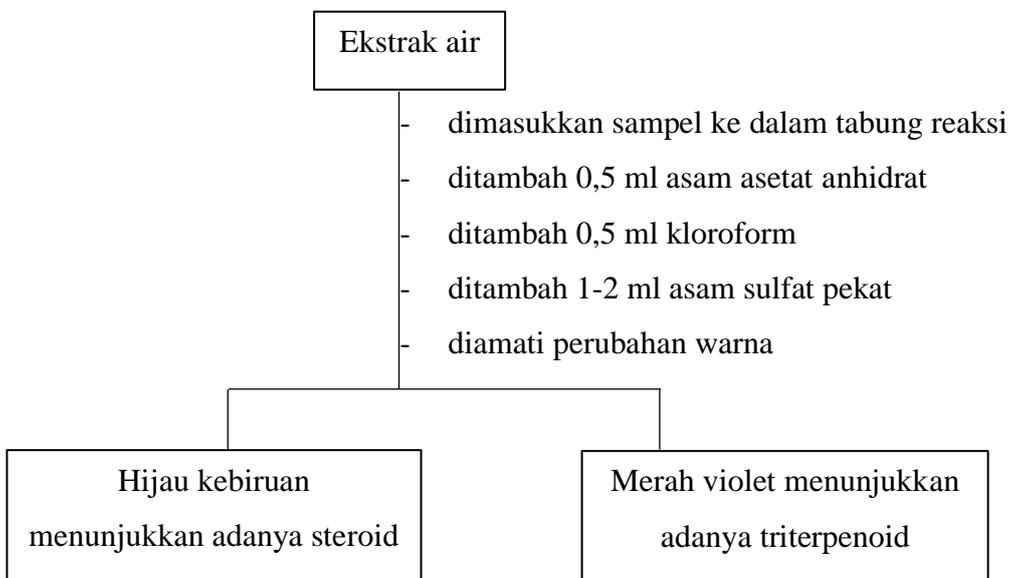
c). Pengukuran serapan larutan standar asam askorbat

**L.2.5 Uji Fitokimia Menggunakan Reagen****L.2.5.1 Uji Flavonoid**

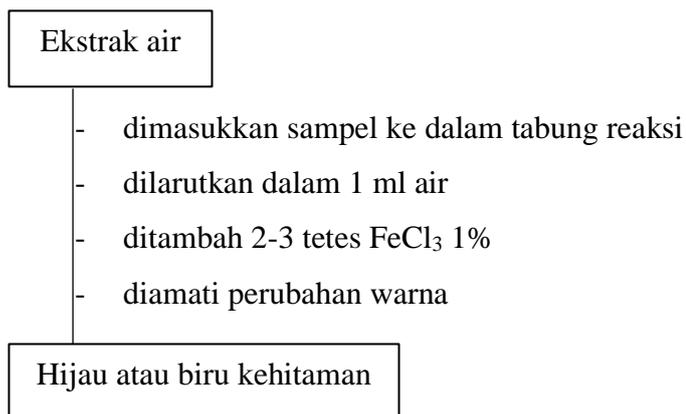
L.2.5.2 Uji Alkaloid



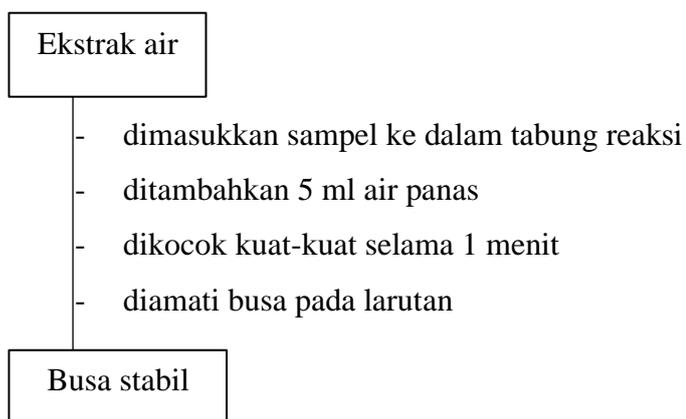
L.2.5.3 Uji Steroid/ Triterpenoid



L.2.5.4 Uji Tanin

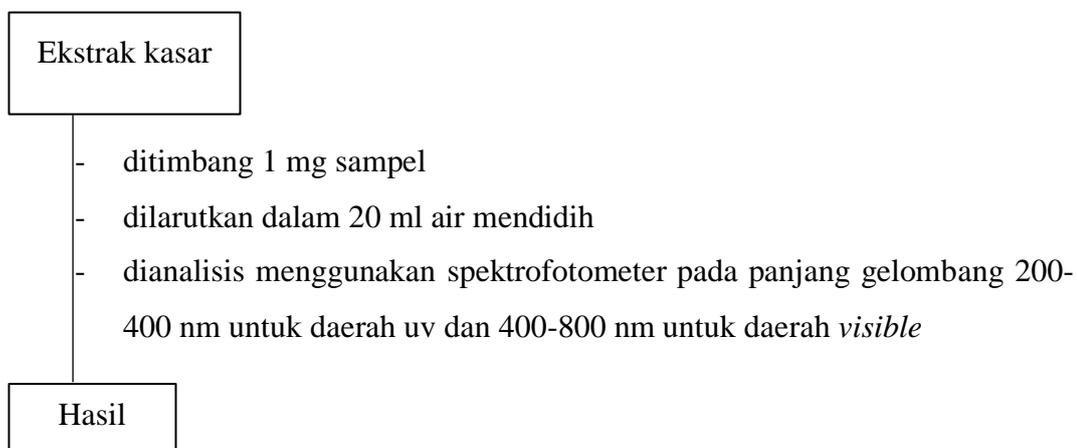


L.2.5.5 Uji Saponin

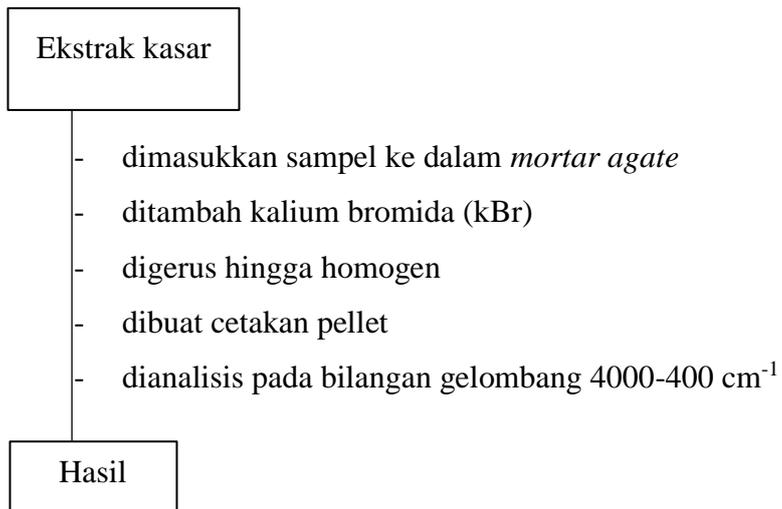


L.2.6 Karakterisasi UV-Vis dan FTIR

L.2.6.1. Identifikasi dengan UV-Vis



L.2.6.2. Identifikasi FTIR



Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dibuat sebanyak 20 mL menggunakan pelarut etanol p.a.

$$\text{Mr DPPH} = 394,33 \text{ g/mol}$$

$$M \text{ DPPH} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$0,0002 \text{ M} = \frac{\text{massa (g)}}{394,33 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{20}$$

$$\text{massa} = \frac{0,0002 \times 394,33}{50} = 0,001577 \text{ g atau } 1,577 \text{ mg}$$

L.3.2. Pembuatan Larutan Uji Kadar Total Fenol

L.3.2.1. Pembuatan Larutan Standar

A. Pembuatan Larutan Stok Asam Galat 100 ppm

Larutan stok asam galat 100 ppm dibuat sebanyak 10 mL menggunakan pelarut air

dihitung menggunakan rumus $C = \frac{m}{V}$.

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{0,01 \text{ L}}$$

$$\text{Massa} = 100 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} = 1 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan induk 100 ppm diperlukan sebanyak 1 mg asam galat dalam 10 mL air mendidih.

B. Pembuatan Larutan Asam Galat 2 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam galat konsentrasi 2 ppm diperlukan larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0,1 mL.

C. Pembuatan Larutan Asam Galat 4 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam galat konsentrasi 4 ppm diperlukan larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0,2 mL.

D. Pembuatan Larutan Asam Galat 8 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,4 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam galat konsentrasi 8 ppm diperlukan larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0,4 mL.

E. Pembuatan Larutan Asam Galat 12 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 12 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,6 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam galat konsentrasi 12 ppm diperlukan larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0,6 mL.

F. Pembuatan Larutan Asam Galat 16 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 16 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,8 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam galat konsentrasi 16 ppm diperlukan larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0,8 mL.

G. Pembuatan Larutan Asam Galat 20 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam galat konsentrasi 20 ppm diperlukan larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 1 mL.

L.3.2.2. Pembuatan Larutan Sampel

Larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm dibuat sebanyak 10 mL menggunakan pelarut air dihitung menggunakan rumus $C = \frac{m}{V}$.

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{0,01 \text{ L}}$$

$$\text{Massa} = 100 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} = 1 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan sampel 100 ppm diperlukan sebanyak 1 mg ekstrak sampel dalam 10 mL air mendidih.

L.3.3. Pembuatan Larutan Uji Antioksidan

L.3.3.1. Pembuatan Larutan Sampel

A. Pembuatan Larutan Stok Sampel 100 ppm

Larutan stok sampel 100 ppm dibuat sebanyak 10 mL menggunakan pelarut air dihitung menggunakan rumus $C = \frac{m}{V}$.

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{0,01 \text{ L}}$$

$$\text{Massa} = 100 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} = 1 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan induk 100 ppm diperlukan sebanyak 1 mg ekstrak sampel dalam 10 mL air mendidih.

B. Pembuatan Larutan Sampel 2 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel konsentrasi 2 ppm diperlukan larutan induk 100 ppm sebanyak 0,1 mL.

C. Pembuatan Larutan Sampel 4 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel konsentrasi 4 ppm diperlukan larutan induk 100 ppm sebanyak 0,2 mL.

D. Pembuatan Larutan Sampel 6 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,3 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel konsentrasi 6 ppm diperlukan larutan induk 100 ppm sebanyak 0,3 mL.

E. Pembuatan Larutan Sampel 8 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,4 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel konsentrasi 8 ppm diperlukan larutan induk 100 ppm sebanyak 0,4 mL.

F. Pembuatan Larutan Sampel 10 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel konsentrasi 10 ppm diperlukan larutan induk 100 ppm sebanyak 0,5 mL.

L.3.3.2. Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat

A. Pembuatan Larutan Standar 100 ppm

Larutan standar asam askorbat 100 ppm dibuat sebanyak 10 mL menggunakan pelarut air dihitung menggunakan rumus $C = \frac{m}{V}$.

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{0,01 \text{ L}}$$

$$\text{Massa} = 100 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} = 1 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan standar 100 ppm diperlukan sebanyak 1 mg asam askorbat dalam 10 mL air mendidih.

B. Pembuatan Larutan Standar 0,2 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 0,2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,01 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan standar konsentrasi 0,2 ppm diperlukan larutan standar 100 ppm sebanyak 0,01 mL.

C. Pembuatan Larutan Standar 0,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 0,5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,025 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan standar konsentrasi 0,5 ppm diperlukan larutan standar 100 ppm sebanyak 0,025 mL.

D. Pembuatan Larutan Standar 1 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,05 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan standar konsentrasi 1 ppm diperlukan larutan standar 100 ppm sebanyak 0,05 mL.

E. Pembuatan Larutan Standar 2 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan standar konsentrasi 2 ppm diperlukan larutan standar 100 ppm sebanyak 0,1 mL.

F. Pembuatan Larutan Standar 4 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan standar konsentrasi 4 ppm diperlukan larutan standar 100 ppm sebanyak 0,2 mL.