

PENETAPAN KADAR ASAM GALAT, KAFEIN DAN EPIGALOKATEKIN GALAT PADA BERBAGAI PRODUK TEH CELUP

Yohanes Martono

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika

Universitas Kristen Satya Wacana

Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga

e-mail: yohanes_mart@yahoo.co.id

ABSTRAK

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang cepat dan akurat untuk penetapan kadar asam galat, kafein, dan epigalokatekin galat (EGCG) dengan sistem elusi fase gerak secara isokratik telah dikembangkan. Sistem KCKT terdiri atas kolom fase terbalik C18 (Eurosphere C18, 250 × 4,6 mm i.d., 5µm), fase gerak campuran asam *orto*-fosfat 0,1% : air : asetonitril : metanol (14 : 7 : 3 : 1 v/v/v/v) pH = 4,00 dengan kecepatan alir 1,2 mL/min serta dideteksi pada UV 280 nm. Metode yang dikembangkan telah digunakan untuk menganalisa berbagai produk teh celup (teh hijau dan hitam). Pada teh hijau, hasilnya menunjukkan bahwa kandungan terbesar adalah EGCG diikuti kafein dan asam galat sedangkan pada teh hitam, EGCG tidak terkuantitasi.

Kata kunci: asam galat, kafein, EGCG, teh celup

PENDAHULUAN

Teh adalah salah satu jenis minuman yang paling dikenal di dunia. Minum secangkir teh untuk menghilangkan stres atau untuk waktu santai sudah menjadi bagian dari keseharian berjuta penduduk di dunia. Indonesia termasuk dalam 5 negara terbesar pengekspor teh selain India, China, Sri Lanka, dan Kenya. Produksi ekspor teh di Indonesia mencapai 6% dari total ekspor teh dunia (Anonim, 2008). Di dalam negeri, teh dikonsumsi dalam bentuk minuman. Berbagai produk teh baik jenis teh hijau, hitam, maupun teh wangi telah diproduksi. Bentuk sediaan teh ini juga berbagai macam, dari bentuk teh padat untuk seduhan, teh celup, hingga teh yang dikemas dalam botol. Saat ini, bentuk sediaan teh yang digemari masyarakat adalah teh celup, karena praktis penyiapannya.

Berbagai penelitian selama dasawarsa terakhir abad 20 ini menunjukkan bukti bahwa teh dapat menjaga kesehatan tubuh manusia. Hasil studi epidemiologi menunjukkan bahwa teh dan flavonoid turunan teh dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler dan arterosklerosis (Miura dkk., 2001). Berbagai studi epidemiologi juga menunjukkan bahwa konsumsi teh hijau dapat mencegah dan memperlambat pertumbuhan sel kanker, seperti kanker perut, payudara, kandung, prostat, dan rongga mulut. Manfaat lain mengkonsumsi teh bagi kesehatan diantaranya dapat menurunkan kolesterol, melangsingkan tubuh, meningkatkan kekebalan tubuh dan masih banyak yang lain (Syah, 2006).

Berbagai efek menyehatkan dari teh tersebut disebabkan karena kandungan senyawa fitokimia dalam teh. Senyawa fitokimia yang banyak terkandung di dalam teh adalah katekin. Senyawa fitokimia tersebut merupakan golongan senyawa polifenolik yang mempunyai gugus hidroksi yang banyak atau sering disebut sebagai polihidroksi. Senyawa turunan katekin yang terdapat dalam teh adalah: (-)-*epicatechin* (EC), (-)-*epigallocatechin* (EGC), (-)-*epicatechin gallate* (ECG), dan (-)-*epigallocatechin gallate* (EGCG). Senyawa fitokimia terbesar yang terkandung dalam teh adalah EGCG, yaitu 60-70% dari total katekin (Svobodova dkk., 2003). Selain

katekin, teh juga mengandung senyawa polifenol lain yaitu asam galat dan juga mengandung kafein (Prayong dkk., 2007).

Berbagai metode penetapan kadar senyawa turunan katekin dalam teh telah dikembangkan (Murakami dkk., 2006; Cabrera dkk., 2003; Gafner dkk., 1999). Metode yang dikembangkan adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) fase terbalik dengan sistem elusi gradien yang menggunakan detektor UV-spektrometer massa, tetapi masih belum dilakukan validasi metode. Sistem KCKT lain yang dikembangkan adalah KCKT fase terbalik dengan sistem elusi isokratik, dan menggunakan sistem gradien untuk kecepatan alirnya (Saito dkk., 2006; Prayong dkk., 2007). Li He dkk. (2007) mengembangkan metode KCKT dengan sistem elusi isokratik, tetapi masih terbatas pada senyawa EGCG yang divalidasi dan belum dilakukan aplikasi metode.

Di Indonesia, metode analisis senyawa asam galat, kafein, dan EGCG dalam teh secara KCKT fase terbalik dengan sistem elusi fase gerak dan kecepatan alir secara isokratik belum banyak dikembangkan. Padahal, produk teh merupakan produk yang sangat luas dikonsumsi masyarakat Indonesia dan komoditi ekspor yang potensial. Oleh sebab itu, tujuan penelitian ini adalah mengembangkan metoda analisis senyawa asam galat, kafein, dan EGCG dalam teh secara KCKT fase terbalik dengan sistem elusi isokratik dan mengaplikasikan metode yang dikembangkan untuk menetapkan kadar asam galat, kafein dan EGCG pada berbagai produk teh celup (hijau dan hitam).

BAHAN DAN METODE

A. Optimasi kondisi operasional KCKT

i. Optimasi panjang gelombang pengukuran

Pada penelitian sebelumnya Prayong dkk. (2007) dan Saito dkk. (2006) melakukan deteksi pada panjang gelombang 280 nm. Panjang gelombang ini akan dicobakan pada metode yang dikembangkan.

ii. Optimasi komposisi fase gerak

Optimasi komposisi fase gerak dilakukan dengan mencari perbandingan konsentrasi antara pelarut asam *orto*-fosfat 0,1% : air : metanol : asetonitril (v:v:v:v) dan air : asetonitril : metanol : etil asetat : asam asetat glasial (v:v:v:v:v) dan pH (3,00 dan 4,00) dengan KH_2PO_4 dan TEA yang menghasilkan resolusi $\geq 2,0$.

iii. Optimasi kecepatan alir

Optimasi kecepatan alir dilakukan dengan mencoba kecepatan alir: 0,9; 1,0; 1,2; dan 1,4 mL/min serta dicari kecepatan alir yang optimum melalui kurva Van-Deemter.

B. Pembuatan kurva kalibrasi

Untuk asam galat dibuat larutan standar 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 4; 8; 10; 15; dan 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Untuk kafein, dibuat larutan standar 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 10; 20; 30; 40; dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Untuk EGCG, dibuat larutan standar 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 10; 20; 40; 80; dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Lima seri konsentrasi standar yang sesuai masing-masing diinjeksikan ke KCKT (dengan preparasi yang sudah dioptimasi) dan diulang sebanyak 3 kali. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplotkan rata-rata luas area *peak* vs konsentrasi standar. Hasil plot adalah kurva linear, $y = bx + a$ dengan r sebagai determinan linearitas (Ermer dan Miller, 2005).

C. Aplikasi metode (Saito dkk., 2006 yang telah dimodifikasi)

Sampel teh celup (hijau dan hitam masing-masing 3 merk) diambil tiga kantong secara acak dan dihomogenkan dengan cara dicampur dan diaduk. Sejumlah 0,5 g sampel diekstrak dengan 25,0 mL fase gerak. Ekstraksi dilakukan dengan *sonicator* selama 5 menit. Sebelum diinjeksikan, larutan analit disaring menggunakan mikrofilter 0,45 μm dan diencerkan 10 kali dengan fase

gerak. Sejumlah 20 μL kemudian diinjeksikan ke dalam injektor KCKT. Masing-masing sampel diulang 3 kali dengan masing-masing ulangan dilakukan 3 kali penyuntikan ke sistem KCKT. Untuk menghitung kadar zat yang dianalisis, luas area masing-masing kromatogram senyawa yang dituju (asam galat, kafein, EGCG) yang terkandung dalam sampel yang didapat diplotkan ke persamaan regresi linear kurva baku.

HASIL DAN DISKUSI

A. Optimasi metode analisis

Optimasi metode yang dilakukan adalah:

1. Optimasi panjang gelombang

Dari literatur yang didapat didapatkan dua panjang gelombang optimum serapan senyawa-senyawa katekin, kafein dan polifenol dalam teh, yaitu pada panjang gelombang 210 dan 280 nm. Tetapi, pada panjang gelombang 210 nm, kromatogram akan terinterferensi oleh *noise* yang dapat ditimbulkan oleh serapan-serapan pelarut organik seperti metanol (Saito dkk., 2006). Oleh karena itu, panjang gelombang yang dipilih adalah pada panjang gelombang 280 nm.

2. Optimasi fase gerak

Optimasi fase gerak dilakukan untuk mendapatkan profil kromatogram senyawa asam galat, kafein, dan EGCG yang mempunyai nilai resolusi $\geq 2,00$. Komposisi fase gerak pertama yang dicoba adalah seperti pada penelitian Saito dkk. (2006) yaitu: air, asetonitril, metanol, etil asetat, asam asetat glasial (89 : 6 : 1 : 3 : 1 v/v/v/v/v). Hasil yang didapatkan adalah waktu analisis yang dibutuhkan kurang dari 15 menit tetapi kromatogram senyawa asam galat tidak terpisah sempurna dengan kafein. Menurut Saito dkk. (2006), pemisahan dapat dioptimalkan dengan penambahan metanol dan atau etil asetat. Campuran fase gerak kemudian dioptimalkan dengan memodifikasi perbandingan fase gerak yaitu dengan meningkatkan bagian metanol dan etil asetat, serta mengurangi bagian air sehingga perbandingannya menjadi 86 : 6 : 3 : 4 : 1 (v/v/v/v/v) tetapi resolusi asam galat dan kafein tetap tidak bisa mencapai nilai $\geq 2,00$. Komposisi fase gerak kemudian divariasi dengan meningkatkan bagian asetonitril dan asam asetat sehingga perbandingannya menjadi 86 : 7 : 1 : 3 : 3 (v/v/v/v/v). Profil kromatogram yang didapat ternyata belum memberikan resolusi yang sempurna untuk kromatogram asam galat dan kafein.

Resolusi dipengaruhi oleh faktor selektivitas, selain faktor kapasitas dan nilai plat teori. Salah satu cara untuk mencapai selektivitas yang diharapkan adalah dengan merubah jenis pelarut yang digunakan untuk fase gerak (Snyder dkk., 1997). Komposisi fase gerak lain yang kemudian dioptimalkan adalah berdasarkan penelitian Prayong dkk. (2007), yaitu: asam *orto*-fosfat 0,1%, metanol, asetonitril (16 : 1 : 3 v/v/v). Dari komposisi fase gerak ini, pemisahan kromatogram antara senyawa kafein dan EGCG belum sempurna. Komposisi fase gerak kembali dioptimalkan dengan meningkatkan metanol dan menambahkan air. Fase gerak yang dioptimalkan menjadi campuran asam *orto*-fosfat 0,1%, air, metanol, dan asetonitril (14 : 6 : 2 : 3 v/v/v/v). Hasil yang didapatkan adalah masing-masing kromatogram senyawa yang dituju memiliki resolusi $\geq 2,00$, tetapi asimetri (10%) kromatogram asam galat $> 1,50$.

Penambahan air dalam komposisi fase gerak ternyata dapat menghasilkan resolusi dan faktor asimetri (10%) kromatogram senyawa yang dituju sesuai nilai yang diharapkan ($R \geq 2,00$ dan $As = 0,90-1,5$) (Gambar 1.). Fase gerak optimum yang dicapai adalah asam *orto*-fosfat 0,1%, air, metanol, asetonitril (14 : 7 : 1 : 3 v/v/v/v). Untuk menghindari kerusakan kolom RP C-18, maka pH larutan dibuat 4,00.

3. Optimasi kecepatan alir fase gerak

Optimasi kecepatan alir dilakukan dengan memvariasi kecepatan alir: 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; dan 1,2 mL/min. Berdasarkan kurva Van Deemter, yang menghubungkan kecepatan alir dengan nilai *Height Equivalent of A Theoretical Plate* (HETP), kecepatan alir optimum dicapai saat nilai HETP terkecil dan pada saat nilai plat teori (N) terbesar (Snyder dkk., 1997).

Hasil optimasi yang dicapai adalah: kecepatan alir optimum untuk asam galat 0,9 mL/min dimana pada kecepatan alir ini, N yang didapat adalah 3810. Tetapi, untuk kromatogram senyawa EGCG ternyata memiliki N lebih kecil dari nilai yang diharapkan, yaitu 1561 (< 2000). Kecepatan alir optimum yang dicapai untuk senyawa kafein dan EGCG adalah 1,2 mL/min. Pada kecepatan alir inipun, kromatogram senyawa asam galat masih memiliki nilai N lebih besar dari 2000, yaitu 2467 dan semua kromatogram senyawa memiliki waktu retensi kurang dari 20 menit serta nilai resolusi yang didapat > 2,00. Oleh karena itu, kecepatan alir optimum yang digunakan pada penelitian selanjutnya adalah 1,2 mL/min. Data hasil optimasi kecepatan alir yang optimum dapat dilihat pada Tabel 1. Profil kromatogram hasil optimasi metode KCKT dapat dilihat pada Gambar 1.

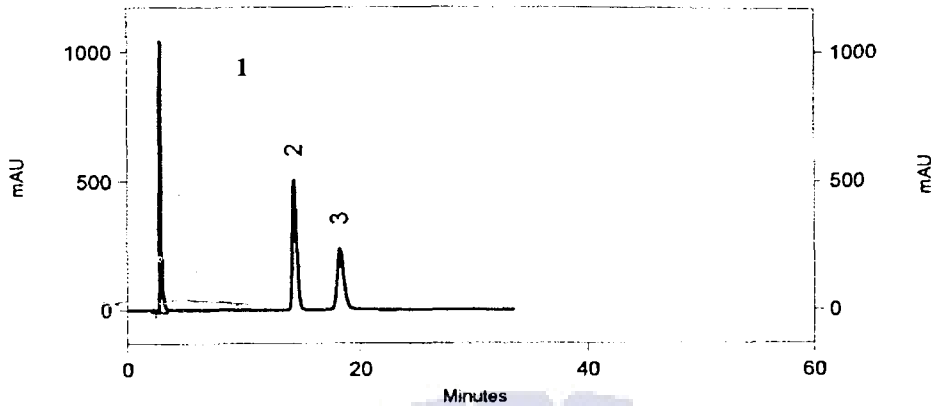
Tabel 1 Hasil Optimasi Pada Kecepatan Alir Fase gerak (asam orto-fosfat 0,1% : air : asetonitril : metanol, 14 : 7 : 3 : 1 v/v/v/v) 1,2 mL/min

Senyawa	Waktu retensi (menit)	N	Resolusi	Asimetri (10%)
Asam galat	2,833	2467		1,64
Kafein	14,267	6768	24,8	1,42
EGCG	18,217	4915	4,6	1,27

B. Pembuatan kurva baku

Pengujian linieritas kurva baku untuk masing-masing senyawa yang dituju berada pada rentang konsentrasi yang berbeda-beda, karena deteksi untuk masing-masing senyawa yang dituju memiliki sensitivitas yang berbeda-beda. Untuk asam galat, kurva baku dibuat pada rentang 4-18 µg/mL, untuk kafein pada rentang 10-50 µg/mL, sedangkan untuk EGCG pada rentang 10-100 µg/mL. Masing-masing larutan baku diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dan kromatogramnya direkam dan selanjutnya luas area dan tinggi masing-masing larutan direkam.

Kurva baku yang dibuat merupakan hubungan antara luas area (mAU-min) dengan konsentrasi baku (µg/mL). Hasil hubungan tersebut dibuat regresi linearnya yaitu $y = bx + a$, dimana y adalah respon (luas area atau tinggi), b adalah kemiringan (*slope*) dan a adalah intersep. Masing-masing kurva baku dibuat sebanyak 3 kali ulangan. Kurva baku yang digunakan adalah kurva baku yang memberikan koefisien korelasi paling besar (r mendekati 1,00) dengan kriteria $r \geq 0,999$ (Ahuja dan Dong, 2005). Hasil dari masing-masing kurva baku berdasarkan konsentrasi vs luas area yang didapat untuk masing-masing senyawa yang dituju dapat dilihat pada Gambar 2., 3., dan 4.



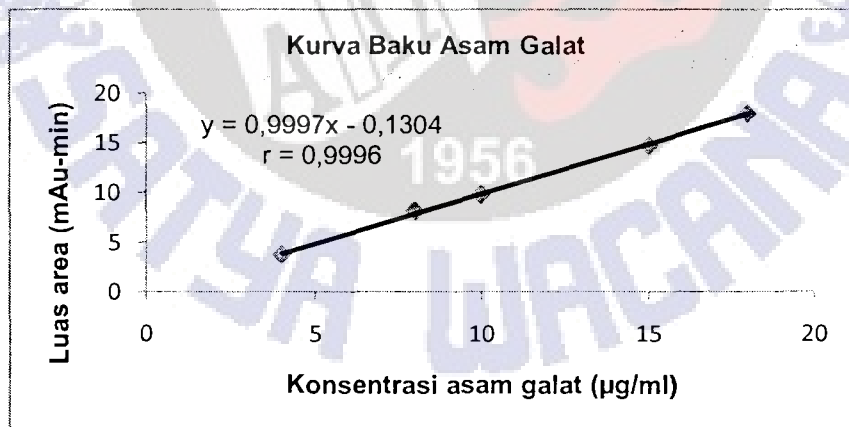
Gambar 1. Profil Kromatogram (1) asam galat (tR 3,35 min), (2) kafein (tR 12,15 min), (3) EGCG (tR 15,80 min) dengan kecepatan alir 1,2 mL/min

Parameter KCKT:

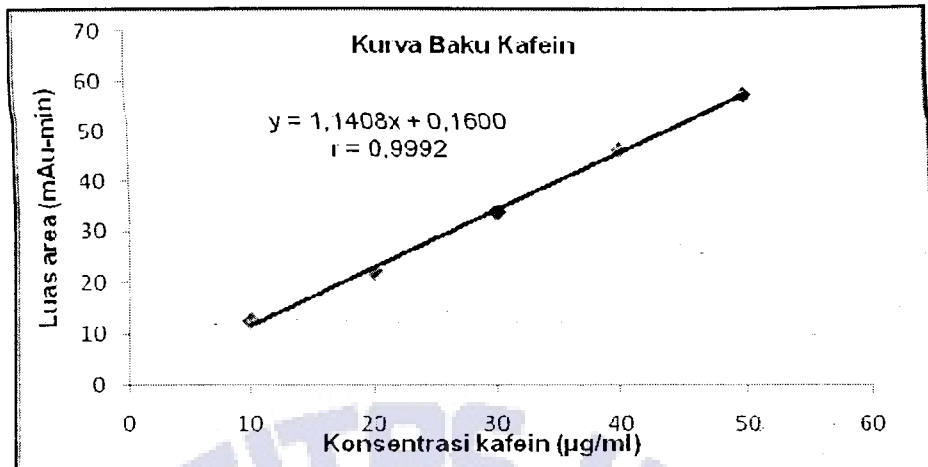
- Fase diam : Eurosphere RP C-18 (250 × 4,6 mm, 5µm), Knauer GmbH-Jerman
- Fase gerak : Campuran asam *orto*-fosfat 0,1% : air : asetonitril : metanol dengan perbandingan (14 : 7: 3 : 1 v/v/v/v) pH = 4,00
- Kecepatan alir : 1,2 mL/min. Volume injeksi (*loop*) : 20µL.
- Detektor : UV 280 nm

C. Penetapan kadar asam galat, kafein, dan EGCG dalam sampel

Sampel teh yang ditetapkan kadar asam galat, kafein, dan EGCG-nya adalah teh hijau dan teh hitam dalam bentuk sediaan teh celup dari beberapa merk yang dijual di supermarket yang berada di daerah Salatiga. Pertimbangan-pertimbangan menggunakan sampel dalam bentuk sediaan teh celup diantaranya adalah karena teh celup banyak dijual di toko-toko atau supermarket, jenis teh yang dijual cukup lengkap (teh hijau, hitam, dan wangi) untuk masing-masing merk, digemari masyarakat karena penyiapannya yang praktis.



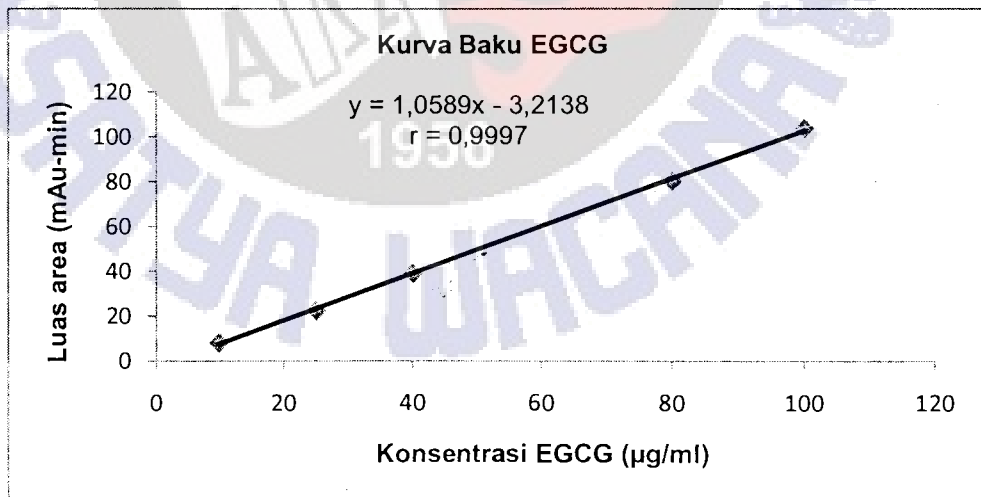
Gambar 2. Kurva kalibrasi (konsentrasi vs luas area) asam galat (4-18 µg/mL) dalam asam *orto*-fosfat 0,1%: metanol: asetonitril: air (14:1:3:7 v/v/v/v pH = 4,00) (n=5).



Gambar 3. Kurva kalibrasi (konsentrasi vs luas area) kafein (10-50 µg/mL) dalam asam orto-fosfat 0,1%: metanol: asetonitril: air (14:1:3:7 v/v/v/v pH = 4,00) (n=5).

Pada penelitian ini, ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan Saito dkk. (2006) yaitu menggunakan pelarut organik yang dalam hal ini adalah fase geraknya. Penggunaan fase gerak untuk ekstraksi dianggap efektif dan dapat menghindari terjadinya epimerasi senyawa katekin dalam teh dibanding dengan air panas (Ho dkk., 2008). Hasil penetapan kadar asam galat, kafein, dan EGCG ditunjukkan pada Tabel 2. dan profil kromatogram hasil analisis sampel jenis teh hijau dan hitam dapat dilihat pada Gambar 5.

Seperti pada Tabel 2., kadar asam galat, kafein, dan EGCG untuk masing-masing produk teh celup cukup bervariasi. Pada penelitian ini, secara umum, EGCG merupakan kandungan senyawa aktif dengan jumlah terbesar dan diikuti oleh senyawa kafein dan asam galat.



Gambar 4. Kurva kalibrasi (konsentrasi vs luas area) EGCG (10-100 µg/mL) dalam asam orto-fosfat 0,1%: metanol: asetonitril: air (14:1:3:7 v/v/v/v pH = 4,00) (n=5).

Pada teh hijau celup, kadar EGCG berkisar antara 2,08-3,96%. Kadar kafein teh jenis ini berkisar antara 1,52-1,69%. Kadar senyawa asam galat sendiri berkisar antara 0,45-0,50%. Bila

dibandingkan dengan penelitian Saito dkk. (2006), kadar EGCG yang didapat lebih rendah yaitu untuk sampel *Chinese green tea* dan *Japanese green tea* berkisar antara 4,03-4,68%. Untuk kafein, kadarnya berkisar antara 2,09-2,32%. Pada penelitian Prayong dkk. (2007) didapatkan kandungan EGCG dalam berbagai produk teh hijau berkisar antara 0,21-9,63%. Kandungan kafein yang didapat pada penelitian yang sama berkisar antara 0,49-4,87%, sedangkan kadar asam galatnya berkisar antara 0,015-0,104%.

Perbedaan kadar asam galat, kafein, dan EGCG tersebut sangat dimungkinkan karena kandungan senyawa fitokimia di dalam daun teh sangat dipengaruhi oleh kualitas daun teh yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan produk teh. Kualitas teh sangat dipengaruhi oleh kandungan senyawa-senyawa katekin dan turunannya. Kandungan senyawa-senyawa katekin dan turunannya dalam teh sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah kondisi lingkungan tempat tanaman teh ditanam (keadaan tanah, ketinggian, iklim), musim panen, dan proses pengolahan teh di pabrik (Hara, 2001; Ho dkk., 2008). Proses pembuatan teh celup di pabrik melalui proses pengeringan *ball meal* dengan pemanasan tinggi untuk membuat rajangan daun teh menjadi serbuk dan mengeringkannya. Proses ini akan sangat berpengaruh terhadap degradasi senyawa fitokimia khususnya senyawa katekin dan turunannya sehingga kandungan EGCG dalam daun teh akan berkurang.

Tabel 2. Kandungan asam galat, kafein, dan EGCG (% b/b) (%RSD) (n = 5) dari berbagai produk teh hijau dan hitam dalam bentuk sediaan teh celup

Jenis Teh	Merk	Asam Galat	Kafein	EGCG
Hijau	A ₁	0,46 (2,2)	1,52 (2,7)	3,96 (17,0)
	B ₂	0,45 (5,2)	1,69 (7,6)	2,08 (14,3)
	C ₃	0,50 (4,7)	1,60 (4,4)	2,23 (7,7)
Hitam	A ₁	0,16 (4,3)	1,57 (4,8)	tidak terkuantitasi
	B ₂	0,19 (9,2)	1,35 (9,7)	tidak terkuantitasi
	C ₃	0,23 (6,2)	1,68 (7,4)	tidak terkuantitasi

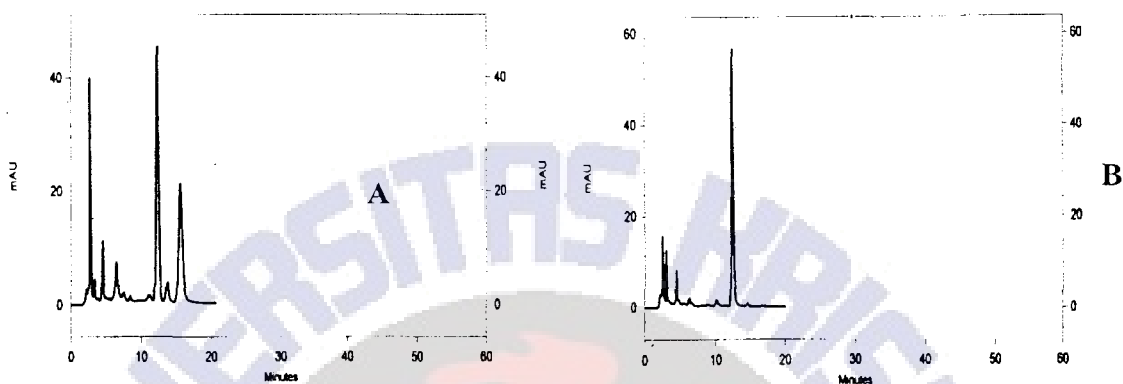
Pada penelitian Priasdita (2008) didapat kadar EGCG yang terkandung dalam teh hijau siap

Priasdita (2008) menggunakan sampel teh hijau siap minum yang berwujud cair dengan volume 500 mL, sehingga konsentrasi teh dalam sampel lebih kecil. Penelitian Kumalasari (2008) menunjukkan kadar EGCG dalam produk teh *oolong* berbagai merk berkisar antara 3,09-4,82%. Bila dibandingkan dengan penelitian ini, kadar EGCG dalam teh hijau celup lebih rendah bila dibandingkan dengan teh *oolong*. Selain kualitas bahan baku daun teh yang dipakai, perbedaan tersebut sangat dipengaruhi oleh proses pengolahan produk teh tersebut.

Pada Tabel 2. terlihat kandungan EGCG merk A₁ berbeda dengan merk B₂ dan C₃. Perbedaan kandungan EGCG dari berbagai produk teh hijau celup tersebut sangat dimungkinkan, dimana perbedaan tersebut sangat dipengaruhi kualitas daun teh sebagai bahan baku dan proses pengolahan daun teh tersebut menjadi produk teh celup di pabrik itu sendiri.

Untuk produk teh hitam celup, kandungan asam galat sangat berkurang bila dibandingkan dengan produk teh hijau celup, yaitu berkisar antara 0,16-0,23%. Bahkan, kandungan EGCG pada produk teh hitam celup menurun sangat drastis, dimana kandungannya sampai tidak terkuantitasi. Hal ini disebabkan oleh faktor pengolahan teh segar menjadi teh hitam. Pada proses pengolahan teh hitam, teh mengalami proses fermentasi oksidatif. Pada proses ini,

senyawa-senyawa katekin dan turunannya seperti EGCG termasuk senyawa polifenol lain seperti asam galat akan teroksidasi oleh udara yang dikatalisis oleh polifenol oksidase. Fermentasi oksidatif ini akan menghasilkan senyawa *theaflavin* dan *thearubigin*. Kedua senyawa ini sangat mempengaruhi warna dan cita rasa teh hitam (Zhen, 2002; Hara, 2001). Kandungan kafein bila dibandingkan dengan teh hijau celup tidak banyak berbeda kadarnya (% b/b) yaitu 1,35-1,68%. Proses fermentasi oksidatif pada daun teh ternyata tidak begitu mempengaruhi kandungan senyawa kafein (Zhen, 2002).



Parameter KCKT seperti pada Gambar 1

Gambar 5. Profil kromatogram sampel (A) teh celup hijau; (B) teh celup hitam: (1) asam galat (tR 2,717 min); (2) kafein (tR 12,283 min), (3) EGCG (tR 15,533 min)

Pada penelitian Saito dkk. (2006), kadar EGCG dalam sampel teh hitam segar adalah 0,54%, sedangkan pada penelitian Kurniasari (2008), kadar EGCG dalam sampel teh hitam seduh yang diteliti adalah 6,18 dan 6,10%. Perbedaan ini kembali menunjukkan bahwa jenis sampel, kualitas bahan baku daun teh yang dipakai dan proses pengolahan daun teh dalam pabrik sangat mempengaruhi kandungan senyawa-senyawa fitokimia dalam produk-produk teh.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil optimasi metode KCKT untuk penetapan kadar asam galat, kafein, dan EGCG dengan kolom Eurosphere RP C-18 (250 x 4,6 mm i.d., 5 µm) menunjukkan kondisi optimum fase gerak berupa campuran dari asam *orto*-fosfat 0,1%: metanol: aetonitril: air (14: 1: 3: 7 v/v/v/v) pada pH = 4,00 dengan kecepatan alir 1,2 mL/menit dan detektor UV pada panjang gelombang deteksi 280 nm.
2. Dari hasil aplikasi metode pada sampel teh hijau celup, kandungan EGCG adalah yang terbesar diikuti dengan kandungan kafein dan asam galat. Pada sampel teh hitam celup, kandungan EGCG tidak terkuantitasi dan kandungan asam galat sangat berkurang bila dibandingkan dengan teh hijau, sedangkan kandungan kafein relatif sama bila dibandingkan dengan teh hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim, 2008. *Sixty-Fourth Report On Export Of Tea*, <http://rajyasabha.nic.in>.
- [2] Cabrera, C., Gimenez, R. & M. Carmen Lopez, 2003. Determination of Tea Components with Antioxidant Activity, *J. Agric. Food Chem* 51, 4427-4435.
- [3] Ermer, J. & Miller, H.M., 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide To Best Practice*, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KGAA.
- [4] Gafner, S., Bergeron, C., Batcha, L.L. & Angerhofer, C.K. 1999. *Free radical scavenging activities of different extracts of green tea (Camellia sinensis)*, New York: Tom's of Maine.

- [5] Hara, Y., 2001. *Green Tea, Health Benefit and Applications*, New York: Marcel Dekker Inc., p 41-43.
- [6] Ho, C.T., Lin, J.K. & F. Shahidi, 2008. *Tea and Tea Products : Chemistry and Health – Promoting Properties*, New York: CRC Press Tylor and Francis Group, p 16-18.
- [7] Kumalasari, R., 2008. *Optimasi dan Validasi Metode Penetapan Kadar Epigallocatechin Gallate Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Aplikasinya Dalam Salah Satu Produk Teh Oolong*, Yogyakarta: Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Gadjadara.
- [8] Miura, Y., Chiba, T., Tomita, I., Koizumi, H., Miura, S., Umegaki, K., Hara, Y., Ikeda, M. & Takako, T. 2001. Tea Catechins Prevent the Development of Atherosclerosis in Apoprotein E-Deficient Mice, *Journal of Nutrition* 22, 27-32.
- [9] Murakami, I., Nakamura, T., Ishibashi, Y., Shibuya R., Ayano, E., Morita-Murase, Y., Nagata, Y. & Kanazawa, H. 2006. Simultaneous Determination of Catechin and Procyanidins in bottle tea drinks by LC/MS, *Chromatography*, 27 (1), 259-265.
- [10] Prayong, P., Weerapreeyakula, N. & Sripanidkulchaia, B., 2007. Validation of Isocratic Eluting and Stepwise Flow Rate Gradient for HPLC Determination of Catechins, Gallic Acid and Caffeine in Tea, *Science Asia*, 33, 113-117.
- [11] Priasdita, FP., 2008, Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Aplikasinya Untuk Penetapan Kadar *Epigallocatechin gallate* (EGCG) Dalam Teh Hitam, Yogyakarta : Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Gadjadara.
- [12] Saito, S.T., Welzel, A., Suyenaga, E.S., dan Bueno, F. 2006. A Method for Fast Determination of Epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin (EC), catechin (C) and caffeine (CAF) in green tea using HPLC. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 26 (2): 394-400.
- [13] Snyder, L.R., Kirkland, J.J., dan J.L. Glajch. 1997. *Practical HPLC Method Development*, 2nd Ed., New York: John Wiley&Son Inc., p 40-41, 210-211, 396-397, 644-646.
- [14] Svobodova, A., Psotova, J. & Walterova, D. 2003. Natural phenolics in prevention of UV-Induced Skin Damage (A review), *Biomed. Papers*, 147(2), 137-145.
- [15] Syah, ANM., 2006, *Taklukkan Penyakit Dengan Teh Hijau*, Jakarta: PT. Agromedia Pustaka, p 10-12, 20-24.
- [16] Tjitrosoepomo G., 1989. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*, cet ke-2, Yogyakarta: UGM Press, p 1-477.
- [17] Zhen, Y., 2002, *Tea, Bioactivity and Therapeutic Potential*, New York: Taylor and Francis, P 1, 57-65.