

RINGKASAN

PENETAPAN KADAR (-)-*EPIGALLOCATECHIN GALLATE* (EGCG) DALAM DAUN TEH DENGAN METODE KCKT

Nina Karlina

Beberapa metode telah dikembangkan untuk menentukan kadar EGCG dalam daun teh. Diantaranya dengan KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) atau disebut HPLC paling sering digunakan karena mempunyai beberapa keuntungan, yaitu dapat dilakukan pada suhu kamar, kolom dapat digunakan berkali-kali, detektor bervariasi dan mempunyai banyak jenis, mempunyai hasil pemisahan yang tinggi dan mempunyai waktu analisis yang singkat, dapat untuk menganalisis matriks yang kompleks (Mulja dan Suharman, 1995). EGCG juga dapat ditentukan dengan metode KLT. Dibanding KLT-Densitometri, KCKT memiliki ketepatan dan ketelitian yang relatif tinggi. KCKT dapat untuk memisahkan kandungan yang keatsiriannya kecil. Keuntungan KCKT dibanding GC terletak pada penggunaannya yang luas, GC telah diketahui hanya mungkin untuk pemisahan senyawa yang mudah menguap atau senyawa yang dapat membentuk derivat yang mudah menguap, karena sebagai fase mobil yang digunakan adalah fase gas, tetapi pada KCKT fase mobil yang digunakan adalah fase cair sehingga sejumlah besar zat dapat dianalisa dengan metode ini (Roth dan Blaschke, 1985). KCKT juga dapat digunakan untuk golongan senyawa yang takatsiri seperti senyawa fenol dan terpenoid tinggi. (Harborne, 1987). Pada penelitian ini digunakan *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* (KCKT) untuk menentukan kadar EGCG yang terdapat didalam daun teh. Daun teh yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari perkebunan teh Wohnosari Lawang, dikarenakan produk teh yang diproduksi banyak di ekspor ke manca negara, diantaranya Jepang, Inggris, Belanda.

Katekin adalah senyawa dominan dari polifenol teh yang terdiri dari (-)-*epicatechin* (EC), (-)-*epicatechin gallate* (ECG),(-)-*epigallocatechin* (EGC) dan (-)-*epigallocatechin gallate* (EGCG). Dari beberapa derivat katekin yang terdapat dalam daun teh (-)-*epigallocatechin gallate* (EGCG) adalah komponen bioaktif yang paling dominan yang bermanfaat bagi kesehatan, yaitu sebagai antioksidan, *antiatherogenic*, *antithrombogenic* dan *anti microbial*, dengan banyaknya manfaat yang dapat diperoleh dengan meminum teh, maka diperlukan suatu metode yang dapat menganalisis berapa kadar EGCG yang terdapat didalam daun teh. Sebelum menentukan kadar EGCG yang terdapat di dalam daun teh dibutuhkan suatu validasi metode, sehingga dapat memberikan informasi yang valid kepada masyarakat mengenai kadar EGCG yang terdapat dalam daun teh.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan validasi metode KCKT dalam menentukan kadar EGCG yang terdapat dalam daun teh. Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini yaitu, teknik sampling daun teh dengan metode sistemik random sampling, penetapan kadar air daun teh, ekstraksi daun teh, optimasi

ABSTRACT

Green tea catechins, especially (-)- *Epigallocatechin gallate* (EGCG) have been proposed as a chemo preventive of cancer, cardiovascular disease and others. However relatively few method to detect of concentration of EGCG from tea leaves accurately. In this study, we try to develop the determinate method of EGCG in tea leaves by using HPLC. The extracts was examined by HPLC using RP C-18 uBondapack 10 μm , 3,9 x 300mm coloumn and the mobile phase of methanol : water : acetic acid (pH = 2) = 20 : 75 : 5 (v/v/v), the mobile phase flow rate is 1,0 ml min^{-1} , and UV detection is performed at 274,8 nm with spectrophotometry diode array detector. The method was validated by determine of limit detection (0,04 $\mu\text{g}/\text{ml}$), limit quantitation (0,15 $\mu\text{g}/\text{ml}$), instrument precision (0,42 %) method precision (4,99 %) and accuracy (109,83 %). These result demonstrate that EGCG in tea leaves can be detected by HPLC method. By using this method, EGCG concentration in tea leaves Wonosari plantation Malang is 1,11 % on wet leaves or 4,65 % on dry leaves. We suggest that HPLC method can be used to detect EGCG concentration in other tea leaves.

Keyword : (-)- Epigallocatechin gallate, tea leaves, EGCG concentration, HPLC, Validation method.

kondisi KCKT, analisis kualitatif, metode validasi dan penetapan kadar EGCG dalam daun teh. Metode validasi pada penelitian ini terdiri dari penentuan selektivitas (α) dan derajat keterpisahan (R_s), linieritas, batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK), presisi alat, akurasi dan presisi metode.

Sebelum daun teh dipreparasi, terlebih dahulu dilakukan penetapan kadar air daun teh. Pada penelitian ini didapat kadar air daun teh sebesar 76,01%. Untuk preparasi sampel daun teh diperoleh dengan cara merendam daun teh dengan aquades panas kemudian diekstraksi dengan pelarut kloroform dan etil asetat. Hasil ekstraksi dikeringkan, ekstrak kering EGCG dilarutkan dalam metanol. Penetapan kadar EGCG dalam penelitian ini menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), untuk fase geraknya digunakan metanol : air : asam asetat = 20 : 75 : 5 (pH = 2) dan fase diam RP C-18 uBondapack 10 μ m, 3,9 x 300 mm, aliran 1,0 ml /menit, detektor spektrofotometer diode array, dengan sistem eluasi isokratik. Panjang gelombang pengamatan yang digunakan pada penelitian ini adalah 274,8 nm. Pada penentuan selektivitas didapat harga (α) = 1,99 dan (R_s) = 2,85. Untuk penentuan linieritas diperoleh persamaan regresi $y = 26,76 x - 8,7909$; (r_{hitung}) = 0,99935; r_{tabel} (α 0,05) = 0,707; harga (V_{xo}) = 2,77 %; dimana terbukti harga $r_{hitung} > r_{tabel}$ dan harga $V_{xo} < 5$ % sehingga dapat dinyatakan bahwa adanya hubungan korelasi linier antara konsentrasi analit dengan respon detektor. Pada penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi didapat harga batas deteksi (BD) = 0,04 μ g/ml dan batas kuantitasi (BK) = 0,15 μ g/ml. Untuk penentuan presisi alat didapat harga (KV) = 0,42 % dan presisi metode didapat harga (KV) 4,99 %. Penentuan akurasi metode didapatkan harga persen perolehan kembali sebesar 109,83 %. Dengan kondisi analisis yang diperoleh, didapat kadar EGCG dalam daun teh adalah 1,09 % \pm 0,01 % untuk berat basah atau 4,53 % \pm 0,03 % untuk berat kering.

Metode ini disarankan agar dapat digunakan untuk mempelajari kadar EGCG dalam daun teh karena pengaruh spesies, waktu panen, pengaruh ketinggian, tempat tumbuh, komposisi tanah dan lain-lain.