

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS DAN STABILITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN TEH HITAM MENGGUNAKAN METODE DPPH



PERMATASARI SETYA NOVYANA

051811133047

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN**

SURABAYA

2022

Lembar Pengesahan

**PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP
AKTIVITAS DAN STABILITAS ANTIOKSIDAN
SEDUHAN TEH HITAM MENGGUNAKAN METODE
DPPH**

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat

Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada

Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

2022

Oleh:

PERMATASARI SETYA NOVYANA

051811133047

Skripsi ini telah disetujui pada

Tanggal 26 Juli 2022 oleh:

Pembimbing Utama


Prof. Dr. Apt. Djoko Agus P., M. Si.
19590805 198701 1001

Pembimbing Serta


Apt. Melanny Ika S., S.Farm., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198205052006042001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Permatasari Setya Novyana

NIM : 051811133047

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Tugas Akhir/Skripsi yang saya tulis dengan judul:

PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS DAN STABILITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN TEH HITAM MENGGUNAKAN METODE DPPH

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagai mestinya.

Surabaya, 26 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,


METRAN TEMPEL
K 1271AJX451537355

Permatasari Setya Novyana

051811133047

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Permatasari Setya Novyana

NIM : 051811133047

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS DAN STABILITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN TEH HITAM MENGGUNAKAN METODE DPPH

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagai mestinya.

Surabaya, 26 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,



METERA
TEMPER
PESAJI X451653331

Permatasari Setya Novyana

051811133047

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Pengaruh Penambahan Vitamin C Terhadap Aktivitas Dan Stabilitas Antioksidan Seduhan Teh Hitam Menggunakan Metode DPPH” ini dengan baik dan untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana farmasi dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya. Dalam proses penyelesaian skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara moral dan mental. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku rektor Universitas Airlangga serta Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D., selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas untuk mengikuti program pendidikan S-1 Farmasi.
2. Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si., selaku pembimbing utama dan apt. Melanny Ika S, S.Farm.,M.Sc., Ph.D selaku pembimbing serta, yang telah membimbing penulis, memberikan ilmu, masukan dan saran kepada penulis, serta memberikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
3. Prof. Dr. apt. Juni Ekowati, M.Si., selaku ketua Departemen Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga serta apt. Diajeng Putri Paramita, S.Farm., M.Sc, selaku penanggung jawab laboratorium Multi-Purpose Laboratory 3 Departemen Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Dr. apt. H. Achmad Syahrani, MS., dan Dr. apt. Isnaeni, M.S., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran untuk menyempurnakan naskah skripsi ini.
5. Dra. apt. Toetik Aryani, M.Si., selaku dosen wali yang telah mendukung dan membimbing penulis dari semester satu hingga dapat menyelesaikan pendidikan S-1 di Fakultas Farmasi.

6. Orang tua penulis, serta kakak penulis yang telah memberikan dukungan semangat serta doa yang tak henti-henti sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
7. Teman-teman penulis, Syifani, Betria, Cica, Riska yang telah berjuang bersama dalam menyelesaikan skripsi ini dan berbagi informasi terkait perkembangan dalam proses mengerjakan skripsi.
8. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya pembuatan Skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan di dalam skripsi ini. Oleh karena itu, diharapkan saran dan kritik yang membangun untuk pengembangan skripsi ini. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas kebaikan semua pihak atas dukungan dan doa yang telah diberikan kepada penulis. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya ilmu kefarmasian.

Surabaya, 26 Juli 2022

Penulis

RINGKASAN

PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS DAN STABILITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN TEH HITAM MENGGUNAKAN METODE DPPH

Permatasari Setya Novyana

Teh memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh, manfaat teh bagi kesehatan terletak pada komponen bioaktifnya, yaitu polifenol. polifenol paling banyak mengandung katekin (C) yang terdiri dari Epikatekin (EC), Epigalokatekin (EGC), Epikatekin Galat (ECG), Epigalokatekin Galat (EGCG). Kandungan paling besar dari turunan senyawa katekin adalah (-) epigalokatekin galat (EGCG) sebesar 60-70% dari seluruh total katekin (Fadhilah *et al.*, 2021). Kandungan epigalokatekin galat pada teh hijau paling tinggi diantara teh lainnya yaitu sebanyak 3,28% tetapi pada teh hitam hanya 2,21% (Bartosikova & Necas, 2018).

EGCG memiliki aktivitas antioksidan yang merupakan suatu molekul yang dapat menghambat terjadinya radikal bebas dan dapat bereaksi dengan molekul radikal bebas. Namun, EGCG dapat mengalami degradasi yaitu terjadinya reaksi epimerasi dan autooksidasi yang disebabkan oleh adanya pengaruh suhu, pH, dan waktu penyimpanan. Hal tersebut dapat diatasi dengan penambahan antioksidan seperti asam askorbat yang telah terbukti dapat meningkatkan stabilitas EGCG (Krupkova *et al.*, 2016). Interaksi antar EGCG dengan vitamin C juga memberikan efek sinergi dari keduanya (Dai *et al.*, 2008). Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa penambahan vitamin C dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Li *et al.*, 2010).

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH karena metode yang valid dan akurat (Kedare & Singh, 2011), selain itu juga sederhana, prosesnya yang cepat tidak menggunakan banyak reagen dan langkah kerja yang cepat sehingga metode ini dapat dikatakan tidak mahal dibandingkan metode lainnya (Pine *et al.*, 2015). Metode DPPH menggunakan senyawa 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil merupakan senyawa radikal bebas yang memiliki sifat stabil. Adanya delokalisasi elektron yang tidak berpasangan diatas molekul secara keseluruhan. Delokalisasi tersebut mengakibatkan timbulnya warna ungu tua sehingga dapat diabsorpsi maksimal pada panjang gelombang sekitar 517 nm (Pine *et al.*, 2015).

Parameter yang dihitung pada metode DPPH adalah konsentrasi efektif senyawa antioksidan menggunakan nilai IC_{50} (Inhibitory concentration 50%) yaitu suatu senyawa yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Selain itu, kandungan teh hitam yaitu EGCG yang dapat terdegradasi dikarenakan pengaruh suhu, pH dan waktu penyimpanan dengan penambahan antioksidan seperti vitamin C diharapkan mampu meningkatkan stabilitas dari EGCG. Semakin tinggi nilai IC_{50} , semakin rendah aktivitas antioksidannya. Hasil dari penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan ditunjukkan oleh nilai IC_{50} teh hitam pada jam ke-0, jam ke-6, dan jam ke-24 sebesar 162,47 ppm; 168,99 ppm; 197,92 ppm artinya aktivitas menurun setelah penyimpanan dan setelah penambahan vitamin C nilai IC_{50} untuk 0 jam, 6 jam, dan 24 jam adalah 147,88 ppm; 154,15 ppm; 169,39 ppm artinya terjadi penurunan aktivitas setelah penyimpanan. Dari hasil sebelum dan sesudah penambahan vitamin C nilai IC_{50} setelah penambahan vitamin C menurun sehingga aktivitas antioksidan teh hitam setelah penambahan vitamin C meningkat. Kestabilan teh hitam dapat dilihat dari laju penurunan persentase inhibisi setiap jam, laju penurunan aktivitas teh hitam sebesar 30,88%/jam dan teh hitam dengan penambahan vitamin C sebesar 18,29%/jam. Dapat disimpulkan penambahan vitamin C meningkatkan aktivitas dan stabilitas seduhan teh hitam.

ABSTRACT

THE EFFECT OF VITAMIN C ADDITION ON ANTIOXIDANT ACTIVITY AND STABILITY BREWING ON BLACK TEA USING DPPH METHOD

Permatasari Setya Novyana

Background : Black tea contains EGCG compound which has antioxidant activity. Antioxidants can inhibit free radicals. However, EGCG compounds are unstable to degradation, epimeration and autoxidation reactions. The addition of vitamin C can prevent degradation of EGCG. **Objective** : This reaseach aims to measure differences in the activity of black tea before and after addition of vitamin C. **Method** : DPPH method is effective concentration of antioxidant compounds using the IC_{50} value (50% Penentuan IC_{50} dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dilakukan dengan perlakuan yang sama setelah penyeduhan pada waktu 0 jam dan setelah penyimpanan pada waktu 6 jam, dan 24 jam. inhibitory concentration).The higher IC_{50} value, the lower the antioxidant activity. **Results**: The antioxidant activity was indicated by IC_{50} value of black tea at the 0 hours, 6 hours, and 24 hours of 162,47 ppm; 168,99 ppm; 197,92 ppm means that the activity decreased after storage and after the addition of vitamin C the IC_{50} value was 147,88 ppm; 154,15 ppm; 169,39 ppm means there is a decrease in activity after storage. From the results before and after addition of vitamin C, IC_{50} value after addition of vitamin C decreased so that antioxidant activity of black tea after addition of vitamin C increased. The stability of black tea can be seen from rate of decrease in the percentage of inhibition every hour, the rate of decrease in the activity of black tea is 30,88%/hour and black tea with addition of vitamin C is 18,29%/hour. **Conclusion**: the addition of vitamin C increased the activity and stability of black tea.

Keyword : Black tea, antioxidant activity, Vitamin C, DPPH

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvii
LAMPIRAN.....	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Teh	7
2.2 Klasifikasi Teh	7
2.2.1 Teh Hijau	7
2.2.2 Teh Oolong	8

2.2.3 Teh Hitam	8
2.3 Kandungan Dan Manfaat Teh	9
2.3.1 <i>Epigallocatechin gallate</i> (EGCG)	10
2.4 Manfaat Teh Hitam	12
2.5 Penyeduhan	12
2.6 Vitamin C	13
2.6.1 Manfaat Vitamin C	13
2.6.2 Penambahan vitamin C pada Seduhan Teh Hitam.....	14
2.7 Antioksidan	15
2.8 Radikal Bebas.....	15
2.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	17
2.9.1 Metode DPPH	17
2.9.2 Metode FRAP	18
2.9.3 Metode UPRAC	19
2.9.4 Metode Aktivitas Penghambatan Radikal Superoksida	19
2.10 Spektrofotometri UV-Vis.....	19
2.10.1 Analisis Kualitatif.....	21
2.10.2 Analisis Kuantitatif.....	21
2.11 Validasi.....	22
2.11.1 Spesifisitas	22
2.11.2 Linieritas dan Rentang	23

2.11.3 Akurasi	23
2.11.4 Presisi	24
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL	26
3.1 Kerangka Konseptual	26
3.2 Bagan Kerangka Konseptual	29
3.3 Hipotesis	30
BAB IV. METODE PENELITIAN	30
4.1 Rancangan Penelitian	30
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	31
4.3 Alat dan Bahan Penelitian	31
4.3.1 Alat	31
4.3.2 Bahan	31
4.4 Variabel Penelitian	31
4.4.1 Variabel Bebas	31
4.4.2 Variabel Tergantung	31
4.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	31
4.6. Prosedur Validasi	32
4.6.1 Preparasi Sampel	32
4.6.2 spesifisitas	33
4.6.3 Linieritas	34
4.6.4 Akurasi	35
4.6.5 Presisi	36

4.7 Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan	36
4.7.1 Preparasi Sampel.....	36
4.7.2 Penentuan IC ₅₀ Teh Hitam	37
4.7.3 Penentuan IC ₅₀ Vitamin C.....	37
4.7.4 Penentuan IC ₅₀ Teh Hitam ditambah Vitamin C.....	38
4.7.5 Membandingkan IC ₅₀	39
4.8 Analisis Data	39
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
5.1 Panjang Gelombang Maksimum DPPH	40
5.2 Hasil Validasi	41
5.2.1 Spesifisitas	41
5.2.2 Linieritas	44
5.2.3 Akurasi.....	49
5.2.4 Presisi.....	50
5.2.5 Rentang	51
5.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	51
5.3.1 IC ₅₀ Teh Hitam.....	51
5.3.2 IC ₅₀ Vitamin C	54
5.3.3 IC ₅₀ Teh Hitam ditambah Vitamin C	56
5.3.4 Membandingkan IC ₅₀	58
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	61
6.1 Kesimpulan.....	61

6.2	Saran	61
	DAFTAR PUSTAKA	62

DAFTAR TABEL

TABEL

Tabel 2.1	Kategori Tingkat Kekuatan Antioksidan	18
Tabel 2.2	Spektrum Visibel	20
Tabel 2.3	Kriteria penerimaan studi akurasi dan presisi untuk analit yang berbeda konsentrasi	24
Tabel 5.1	Hasil Pengamatan Serapan DPPH	41
Tabel 5.2	Hasil Data Linieritas EGCG	44
Tabel 5.3	Hasil Data Linieritas Teh Hitam.....	46
Tabel 5.4	Hasil Data Linieritas Vitamin C	48
Tabel 5.5	Penentuan kadar egcg yang di tambahkan untuk penentuan akurasi	50
Tabel 5.6	Data Akurasi Teh Hitam.....	50
Tabel 5.7	Hasil Data Presisi Teh Hitam	51
Tabel 5.8	Rentang Batas Tertinggi dan Terendah Sampel	51
Tabel 5.9	Hasil Data Uji Aktivitas antioksidan Teh Hitam	52
Tabel 5.10	Hasil Data Uji Aktivitas antioksidan Vitamin C	54
Tabel 5.11	Hasil Data Uji Aktivitas antioksidan Teh Hitam + Vitamin C	56
Tabel 5.12	IC ₅₀ Teh Hitam dan Teh Hitam+Vitamin C	58

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Teh (Carsalade <i>et al.</i> , 2012)	6
Gambar 2.2 Teaflavin dan Tearubigin (Astuti <i>et al.</i> , 2015)	8
Gambar 2.3 Senyawa katekin	11
Gambar 2.4 Epimerisasi dan Autooksidasi EGCG (Krupkova <i>et al.</i> , 2016)	14
Gambar 2.5 Prediksi Stabilitas EGCG dengan Vitamin C (Rahman, 2019)	16
Gambar 2.6 <i>Role of</i> SOD, CAT, and GPx (Kunwar & Priyadarsini, 2011)	17
Gambar 2.7 <i>Free Radical</i> (Molyneux, 2004)	17
Gambar 2.8 Reaksi senyawa DPPH dengan antioksidan (David, 2014)	20
Gambar 3.1 Struktur Theasinensin A.....	27
Gambar 5.1 Spektra DPPH	42
Gambar 5.2 Spektra EGCG 6 ppm dan DPPH 25 ppm	42
Gambar 5.3 Spektra Teh Hitam 120 ppm dan DPPH 25 ppm.....	43
Gambar 5.4 Spektra Vitamin C 12 ppm dan DPPH 25 ppm	45
Gambar 5.5 Kurva linieritas EGCG.....	45
Gambar 5.6 Kurva %inhibisi EGCG	45
Gambar 5.7 Kurva linieritas teh hitam.....	47

Gambar 5.8 Kurva %inhibisi teh hitam	47
Gambar 5.9 Kurva linieritas vitamin C.....	48
Gambar 5.10 Kurva %inhibisi vitamin C	49
Gambar 5.11 Grafik %inhibisi teh hitam pada penyimpanan 0 jam, 6 jam, 24 jam.....	53
Gambar 5.12 Grafik %inhibisi vitamin C pada penyimpanan 0 jam, 6 jam, 24 jam.....	55
Gambar 5.13 Grafik %inhibisi teh hitam + vitamin C pada penyimpanan 0 jam, 6 jam, 24 jam	57
Gambar 5.14 Grafik IC ₅₀ Teh Hitam Sebelum Dan Sesuda Penambahan Vitamin C Pada Penyimpanan 0 Jam, 6 Jam, Dan 24 Jam	58
Gambar 5.15 Grafik laju degradasi antioksidan/ jam antara teh hitam dengan teh hitam ditambah vitamin C	59

DAFTAR SINGKATAN

C	: <i>Catechin</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
CUPRAC	: <i>Cupric Reducing/Antioxidant Power</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EC	: <i>Epicatechin</i>
EGC	: <i>Epigallocatechin</i>
ECG	: <i>Epicatechin Gallat</i>
EGCG	: <i>Epigallocatechin Gallate</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing/Antioxidant Power</i>
GPx	: <i>Glutathion Peroxidase</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxida dismutase</i>
UV-Vis	: Ultraviolet - Visibel

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran -1	69
Lampiran -2	71
Lampiran -3	79