

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN.....	viii
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Umum	7
1.4 Tujuan Khusus	7
1.5 Manfaat	7
BAB II.....	9
TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Teh Hijau	9
2.2 EGCG.....	11
2.2.1 Struktur EGCG.....	11
2.2.2 Sifat Fisika dan Kimia EGCG.....	12
2.3 Degradasi EGCG	13
2.2.3.1 Auto Oksidasi.....	14
2.2.3.2 Epimerasi	14
2.2.4 Faktor Stabilitas EGCG	15
2.2.4.1 Suhu Penyimpanan.....	15
2.2.4.2 pH.....	15
2.2.4.3 Metode Penyeduhan.....	16
2.2.4.4 Penggunaan wadah penyimpanan tanpa cahaya	17
2.2.4.5 Penambahan senyawa antioksidan	18
2.3 Asam Askorbat.....	21
2.4 Mekanisme Vitamin C dalam Mencegah Degradasi EGCG.....	22

2.5 Penentuan Kadar EGCG	24
2.5.1 Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	24
2.5.1.1 Pemilihan Fase gerak (Eluen)	24
2.5.1.2 Parameter Pemisahan	26
2.5.2 Densitometer	27
2.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan	29
2.6.1 Metode DPPH	30
2.6.2 Mekanisme Stabilitas Aktivitas Antioksidan oleh Vitamin C	32
2.7 Penentuan Kadar Vitamin C dengan Titrasi Iodometri	33
2.8 Spektrofotometer UV-visibel	35
2.9 Validasi Metode	36
2.9.1 Spesifisitas dan selektifitas	37
2.9.2 Linieritas	38
2.9.3 Akurasi	38
2.9.4 Presisi	39
BAB III	41
KERANGKA KONSEPTUAL	41
3.1 Kerangka Konseptual	41
3.2 Bagan Konseptual	43
3.3 Hipotesis	44
BAB IV METODE PENELITIAN	45
4.1 Rancangan Penelitian	45
4.2 Sampel Penelitian	47
4.3 Variabel Penelitian	47
4.4 Bahan penelitian	47
4.5 Alat Penelitian	47
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	48
4.7 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	48
4.7.1 Pembuatan larutan standar vitamin C	48
4.7.2 Preparasi Sampel Seduhan Teh Hijau	48
4.7.3 Optimasi Fase Gerak	48
4.7.4 Pembuatan larutan standar EGCG	49
4.7.6 Optimasi Panjang Gelombang EGCG	49
4.7.7 Optimasi Teknik Penotolan	49
4.7.8 Validasi Metode	50
4.7.8.1 Selektivitas/Spesifisitas	50

4.7.9.2 Linieritas	50
4.7.9.3 Akurasi.....	50
4.7.9.4 Presisi.....	51
4.7.10 Uji Kadar EGCG dengan metode KLT-Densitometri.....	51
4.7.11 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH.....	52
4.7.11.1 Pembuatan larutan DPPH dan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH	52
4.7.11.3 Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel.....	52
4.7.12 Penentuan Kadar Vitamin C dalam Sampel.....	53
4.7.12.1 Pembuatan larutan kalium iodat $0,002 \text{ mol L}^{-1}$	53
4.7.12.2 Pembuatan Larutan Indikator Pati 0,5%	53
4.7.12.3 Pembuatan larutan kalium iodida $0,6 \text{ mol L}^{-1}$	53
4.7.12.4 Pembuatan larutan asam klorida (HCl) 1 mol L^{-1}	53
4.7.12.5 Uji kadar vitamin C dengan metode Titrasi	53
4.8 Cara Pengolahan dan Analisis Data	54
BAB V HASIL PENELITIAN	55
5.1 Optimasi Kondisi KLT	55
5.1.1 Pemilihan fase gerak.....	55
5.1.2 Optimasi Teknik Penotolan.....	56
5.1.3 Optimasi Jenis Pelarut Ekstraksi.....	56
5.2 Validasi metode	57
5.2.1 Selektivitas.....	57
5.2.2 Linieritas	62
5.2.3 Akurasi.....	62
5.2.4 Presisi.....	63
5.3 Penentuan Kadar EGCG	64
5.3.1 Pengaruh Vitamin C terhadap Kadar EGCG	65
5.4 Penentuan aktivitas antioksidan	66
5.4.1 Waktu yang dibutuhkan DPPH untuk bereaksi sempurna dengan sampel	66
5.4.2 Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	67
5.4.3 Aktivitas antioksidan EGCG.....	68
5.4.4 Penentuan Aktivitas antioksidan	69
5.4.5 Pengaruh Vitamin C terhadap Stabilitas Aktivitas Antioksidan Seduhan Teh Hijau	70
5.5 Penentuan Kadar Vitamin C pada Sampel.....	70
BAB VI.....	72
PEMBAHASAN.....	72
6.1 Optimasi Kondisi KLT	72

6.1.1 Pemilihan fase gerak	72
6.1.2 Optimasi Teknik Penotolan.....	73
6.1.3 Optimasi jenis pelarut ekstraksi	73
6.2 Validasi Metode	74
6.2.1 Selektivitas	74
6.2.2 Linieritas	75
6.2.3 Akurasi.....	75
6.2.4 Presisi.....	76
6.3 Penentuan Kadar EGCG	76
6.3.1 Pengaruh Kondisi Penyimpanan Sampel terhadap kadar EGCG.....	76
6.3.2 Pengaruh Vitamin C terhadap Stabilitas EGCG	78
6.4 Penentuan aktivitas antioksidan	79
6.4.1 Stabilitas DPPH	79
6.4.2 Aktivitas Antioksidan vitamin C.....	80
6.4.3 Aktivitas Antioksidan EGCG.....	80
6.4.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Seduhan Teh Hijau	80
6.4.3 Pengaruh Vitamin C terhadap Stabilitas Aktivitas Antioksidan Seduhan Teh Hijau	81
6.4.4 Pengaruh Vitamin C terhadap Stabilitas Kadar EGCG dan Aktivitas Antioksidan pada Sampel Seduhan Teh Hijau.....	81
BAB VII.....	83
KESIMPULAN DAN SARAN.....	83
7.1 Kesimpulan	83
7.2 Saran	83
DAFTAR PUSTAKA	84
Lampiran 6 : Certificate of Analysis (COA) DPPH.....	132

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur EGCG.....	11
Gambar 2. 2 Mekanisme epimerasi dan auto oksidasi EGCG.....	13
Gambar 2. 3 Epimerasi EGCG.....	14
Gambar 2. 5 Mekanisme pembentukan Asam Dehidroaskorbat.....	22
Gambar 2. 4 Struktur asam askorbat.....	22
Gambar 2. 6 Mekanisme efek sinergis antara AA dan EGCG.....	23
Gambar 2. 7 Skema Kerja Densitometer.....	29
Gambar 2. 8 Struktur DPPH.....	31
Gambar 2. 9 Reaksi DPPH dengan antioksidan.....	32
Gambar 2. 10 Mekanisme Stabilitas Antioksidan oleh Vitamin C.....	32
Gambar 2. 11 Skema alat spektrofotometer UV-vis.....	35
Gambar 3. 2 Kerangka Konseptual.....	43
Gambar 4. 1 Bagan Kerangka Operasional Penelitian.....	46
Gambar 5.1. Densitogram Hasil Ekstraksi Sampel dengan beberapa pelarut.....	56
Gambar 5.2. Densitogram standar EGCG (a), ekstrak TH (b), ekstrak THVC1 (c), ekstrak THVC2 (d), ekstrak THVC3 (e), ekstrak THVC4 (f), ekstrak THVC5 (g).....	58
Gambar 5.3. Visualisasi KLT setelah dielusi.....	59
Gambar 5.4. Hasil spektra analit EGCG dari ekstrak sampel menggunakan metode KLT-Densitometer.....	60
Gambar 5. 5 Spesifikasi Puncak EGCG.....	61
Gambar 5.6. Densitogram hasil scan KLT menggunakan Densitometer.....	61
Gambar 5. 7. Kurva Linieritas EGCG menggunakan metode KLT-Densitometri.....	62
Gambar 5. 8 Hubungan waktu paruh dan kadar EGCG pada setiap sampel dan setiap waktu pengukuran.....	66
Gambar 5. 9. Kurva absorbansi DPPH setelah ditambahkan pada sampel dalam waktu penyimpanan tertentu menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	67
Gambar 5. 10. Kurva IC ₅₀ Vitamin C.....	68
Gambar 5. 11. Kurva IC ₅₀ EGCG.....	68
Gambar 5. 12 Hubungan antara stabilitas antioksidan selama 4 hari dengan waktu paruh.....	70

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kandungan Senyawa Teh Hijau.....	10
Tabel 2. 2 Kadar Catechin dari beberapa jenis teh.....	11
Tabel 2. 3 Nilai log P senyawa antioxidant teh hijau.....	13
Tabel 2. 4 Kadar EGCG dari berbagai jenis Ekstraksi.....	17
Tabel 2. 5 Potensial oksidasi reduksi radikal dan tipe antioksidan.....	19
Tabel 2. 6 Manfaat Penambahan Asam Askorbat terhadap aktivitas EGCG.....	20
Tabel 2. 7 Nilai K dan Log P Pelarut.....	25
Tabel 2. 8 Beberapa metode pengujian daya antioksidan.....	30
Tabel 2. 9 Karakteristik Validasi Metode.....	36
Tabel 2. 10 Persyaratan Rekoveri dan RSD.....	39
Tabel 5. 1 Optimasi Fase Gerak pada Ekstrak Sampel.....	55
Tabel 5. 2 Data Hasil Evaluasi Penotolan Menggunakan Linomat dan Manual.....	56
Tabel 5.3 Identifikasi Kromatogram Optimasi Penggunaan Berbagai Pelarut Ekstraksi dengan Metode KLT-Densitometri.....	57
Tabel 5. 4 Data Uji Parameter Selektivitas Menggunakan Metode KLT-Densitometri.....	57
Tabel 5. 5 Nilai <i>purity</i> pada Standar EGCG 50 ppm-500 ppm (1-6); ekstrak TH (7-9); ekstrak THVC1 (10-12); ekstrak THVC2 (13-15); ekstrak THVC3 (16-18); ekstrak THVC4 (19-21) dan THVC5 (22-24).....	60
Tabel 5. 6. Data hasil uji linieritas standar EGCG dengan menggunakan metode KLT-Densitometri	62
Tabel 5.7 Data Hasil Uji Akurasi pada Seduhan Teh Hijau + Vitamin C 3 mg/mL dengan menggunakan metode KLT-Densitometri.....	63
Tabel 5. 8. Data hasil uji presisi pada seduhan teh hijau + vitamin C 3 mg/mL dengan menggunakan metode KLT-Densitometri.....	64
Tabel 5. 9 Data hasil uji pH pada sampel selama waktu penyimpanan.....	64
Tabel 5.10 Data hasil uji kadar EGCG dalam sampel dengan menggunakan metode KLT-Densitometri	65
Tabel 5. 11 % Penurunan Kadar EGCG pada Sampel Setiap Waktu Penyimpanan.....	65
Tabel 5.12 Data hasil uji absorbansi DPPH setelah ditambahkan pada sampel dalam waktu penyimpanan tertentu.....	66
Tabel 5. 13 Data Uji Aktivitas antioksidan Vitamin C menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	67
Tabel 5. 14 Data Uji Aktivitas antioksidan EGCG menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	68
Tabel 5. 15 IC ₅₀ pada seduhan teh hijau.....	69
Tabel 5. 16 % Kenaikan aktivitas antioksidan (IC ₅₀) pada setiap waktu penyimpanan.....	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Hasil Perhitungan Statistika- Stabilitas EGCG dan IC ₅₀ dengan IBM SPSS Statistik Versi 24.....	89
Lampiran 2 : Hasil Perhitungan Statistika- Linieritas dengan IBM SPSS Statistik Versi 24	127
Lampiran 3 : Perhitungan Persen Penurunan Kadar EGCG & Persen Kenaikan IC ₅₀	129
Lampiran 4 : Certificate of Analysis (COA) EGCG	130
Lampiran 5 : Certificate of Analysis (COA) Vitamin C	131
Lampiran 6 : Certificate of Analysis (COA) DPPH	132

DAFTAR SINGKATAN

EGCG = *Epigallocatechin-3 gallate*

ECG = *Epicatechin-3-gallate*

EGC = *Epigallocatechin*

EC = *Epicatechin*

GCG = *Gallocatechin Gallat*

DPPH = *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*

TH = Teh Hijau

THVC1 = Teh Hijau +Vitamin C 1 mg

THVC2 = Teh Hijau +Vitamin C 1,5 mg

THVC3 = Teh Hijau +Vitamin C 2 mg

THVC4 = Teh Hijau +Vitamin C 2,5 mg

THVC5 = Teh Hijau +Vitamin C 3 mg