

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antikolesterol Seduhan Produk Teh Putih Celup (*Camellia sinensis* L.) Menggunakan Metode DPPH dan Liebermann-Burchard

Mimin Kusmiyati^{1*}, Elvi Trinovani², Muhamad Iqbal Rhamadianto²
Raden Minda Kusumah³

^{1,2}Jurusan Farmasi, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung, Provinsi Jawa Barat, Indonesia

³Universitas Bandung, Bandung, Provinsi Jawa Barat, Indonesia

*Email korespondensi : mimin.kusmiyati@gmail.com

Doi: 10.30867/jifs.v5i1.843

ABSTRAK

Teh (*Camellia sinensis* L.) kaya akan senyawa bioaktif polifenol yang didominasi oleh katekin. Hal ini menjadikan teh memiliki manfaat untuk kesehatan diantaranya sebagai antioksidan dan antikolesterol. Teh putih diperoleh dari daun teh yang mengalami proses minimal dan umumnya tidak melalui fermentasi, sehingga teh putih memiliki aktivitas antioksidan dan efek penurunan kolesterol yang lebih unggul dibandingkan jenis teh lainnya. Penelitian ini ditujukan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada sampel teh putih celup merek A, B, dan C berdasarkan parameter IC_{50} melalui uji DPPH dan aktivitas antikolesterol berdasarkan parameter EC_{50} melalui pengujian Liebermann - Burchard serta menentukan suhu dan waktu penyeduhan optimal penyeduhan untuk sampel tersebut. Hasil penelitian menunjukkan ketiga sampel teh putih celup memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berkisar antara 75,30 hingga 96,50 ppm serta aktivitas antikolesterol dengan nilai EC_{50} antara 110,49 hingga 123,40 ppm. Sampel teh celup merek A yang diseduh pada suhu 95°C selama 9 menit menunjukkan aktivitas antioksidan dan antikolesterol tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $75,30 \pm 1,86$ ppm dibandingkan terhadap IC_{50} baku kuersetin 4,02 ppm dan EC_{50} sebesar $110,49 \pm 0,66$ ppm. Analisis statistik *repeated* ANOVA menunjukkan nilai $p.Sig < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan variasi suhu penyeduhan berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan dan antikolesterol. Suhu penyeduhan optimum adalah pada suhu 95°C selama 9 menit.

Kata kunci: teh putih · antioksidan · antikolesterol · DPPH · Liebermann - Burchard

ABSTRACT

The high content of bioactive polyphenols in tea (*Camellia sinensis* L.), especially catechins, imparts various health benefits, including antioxidant and anticholesterol activity. White tea is minimally processed and unfermented. Therefore, white tea has superior antioxidant and anticholesterol performance compared to other teas. This study aimed to evaluate the antioxidant activity of white tea bag samples of brands A, B, and C based on the IC_{50} parameter through the DPPH test method and anticholesterol activity based on the EC_{50} parameter through the Liebermann - Burchard test and determine the optimum brewing temperature and time for these samples. The result showed that all tested white tea bag samples showed strong natural antioxidant properties, with IC_{50} values ranging from 75,30 to 96,50 ppm and anticholesterol activity with EC_{50} values between 110.49 to 123.30 ppm. Tea bag sample brand A brewed at 95°C for 9 minutes showed the highest antioxidant (IC_{50} of 75.30 ± 1.86 ppm) when compared to the standard IC_{50} of quercetin 4.02 ppm and anticholesterol (EC_{50} of 110.49 ± 0.66 ppm). Repeated ANOVA analysis showed a significant brewing temperature on the antioxidant and anticholesterol activities ($p.Sig < 0,05$). Based on these, the optimal brewing temperature to increase the bioactivity was achieved at 95°C for 9 minutes.

Keywords : white tea · antioxidant · anticholesterol · DPPH · Liebermann - Burchard

PENDAHULUAN

Di Indonesia, teh (*Camellia sinensis* L.) berperan sebagai kontributor terbesar kedua untuk ekonomi dan pendapatan devisa negara. Data Badan Pusat Statistik (2023), menunjukkan bahwa jumlah produksi teh di Indonesia mencapai 124,7 ribu ton pada tahun 2022. Teh diketahui memiliki beragam manfaat kesehatan di antaranya sebagai antioksidan, pengatur metabolisme lipid, antiinflamasi, dan pencegah kanker (Ho et al., 2018). Berdasarkan teknik pengolahan dan reaksi enzimatis melalui fermentasi, teh diklasifikasikan menjadi teh hijau (tidak difermentasi), teh putih (fermentasi ringan), teh oolong (semi fermentasi), teh hitam (fermentasi penuh), dan *Pu-erh tea* (fermentasi melibatkan mikroba) (Hilal, 2017). Kandungan bioaktif polifenol yang tinggi (20-35% dari bobot daun teh kering) dalam teh menjadikannya memiliki manfaat besar bagi kesehatan mencegah bahkan mengobati penyakit melalui mekanismenya menangkal radikal bebas dan mengatur aktivitas berbagai jenis oksidase dalam tubuh (Yan et al., 2020). Menurut penelitian Wang et al. (2022), senyawa polifenol utama yang terdapat di dalam teh, yakni katekin (60-80% dari total senyawa polifenol) dan flavonol.

Profil senyawa pada teh dipengaruhi oleh teknik pengolahan dan fermentasi. Teh putih diperoleh dari daun teh yang mengalami proses minimal dan umumnya tidak melalui fermentasi. Oleh karena itu, teh putih memiliki kapasitas antioksidan yang kuat serta paling menonjol dibanding teh lainnya. Hal ini terbukti secara *in-vivo* dan *in-vitro* (Luo et al., 2020). Ditunjukkan pula melalui penelitian Purwaningtyas dan Shobib (2022) yang membandingkan kandungan polifenol dalam teh putih, teh hijau, dan teh hitam, bahwa kandungan polifenol dalam teh putih paling tinggi, yakni sebesar 26% dengan aktivitas antioksidannya $173,5 \pm 1,34$ gram/mL. Kedua hasil ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa teh putih lebih unggul dibanding teh hitam dan teh hijau. Selain itu, teh putih dan kandungan polifenolnya memainkan peran penting dalam metabolisme lipid. Islam (2011), menemukan bahwa ekstrak teh putih secara efektif mampu mengurangi kadar lipid (kolesterol total dan LDL) pada tikus. Penemuan tersebut selaras dengan penelitian Luo et al. (2020) yang membuktikan bahwa teh putih dan kandungan polifenolnya berpotensi menurunkan kadar kolesterol melalui penurunan produksi VLDL dan Luo et al. (2020) membuktikan bahwa teh putih dapat menstimulasi absorpsi LDL-c melalui reseptor LDL sebagai konsekuensi dari aktivasi protein *sterol regulatory element-binding protein 2* (SREBP2) and *per oxisome proliferator-activated receptor δ* (PPAR δ).

Teh menjadi minuman kedua yang banyak dikonsumsi di dunia. Masyarakat umumnya mengonsumsi teh dalam bentuk teh celup. Maka dari itu, teh banyak dikonsumsi dalam bentuk infus dengan cara menyeduhnya menggunakan air panas (Wong et al., 2022). Namun, berdasarkan penelitian Koch et al. (2017) penyiapan teh perlu diperhatikan karena suhu dan waktu penyeduhan dapat mempengaruhi kandungan polifenol dalam infus teh.

Berdasarkan uraian di atas, polifenol terutama katekin yang terkandung dalam teh putih berpotensi sebagai antioksidan dan antikolesterol alami. Untuk memperoleh manfaat tersebut secara optimal, penting untuk menentukan suhu dan waktu penyeduhan yang paling efektif. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji aktivitas antioksidan menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan aktivitas antikolesterol menggunakan metode uji *Liebermann - Burchard* dari sampel teh putih celup merek A, B, dan C secara *in-vitro* dengan mempertimbangkan variasi suhu dan waktu penyeduhan untuk menemukan kondisi optimal dalam mengekstraksi senyawa aktif polifenol dari teh putih.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain spektrofotometer UV-Vis *double beam* (Shimadzu®), kuvet kaca, neraca analitik (Mettler Toledo®), penangas air (KRIS®), vortex (IKA®), termometer, *micro pipet* 10-1000 µL (Eppendorf Research Plus & Dragon Lab Nesco®), *stopwatch*, dan *waterbath*.

Bahan yang digunakan, yaitu teh putih celup merek A, B, dan C yang terdaftar di BPOM, DPPH (Sigma-Aldrich®), Aquades, baku Kuersetin (Merck), metanol p.a (Merck), Kloroform, CH₃COOH anhidrat, H₂SO₄ pekat, baku kolesterol.

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Larutan Sampel Teh Putih Celup A, B, dan C

Ditimbang masing-masing sampel teh putih celup sebanyak 10 sachet dan bobot rata-ratanya dihitung. Dari setiap teh putih celup ditimbang sebanyak 2 gram lalu dimasukkan ke dalam wadah teh celup kosong. Kemudian diseduh menggunakan air panas sebanyak 200 mL pada suhu 55°C, 75°C, dan 95°C selama 9 menit. Hasil seduhan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan volume digenapkan hingga tanda batas menggunakan air, sehingga menghasilkan larutan induk sampel dengan konsentrasi 8000 ppm. Lalu didinginkan dan dimasukkan ke dalam kulkas. Prosedur ini dilakukan 3 kali replikasi.

Tiap larutan induk sampel 8000 ppm dipipet sebanyak 1,25 mL lalu digenapkan hingga 10 mL, sehingga menghasilkan larutan induk sampel 1000 ppm. Dibuat variasi konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm sebanyak 10 mL dari setiap larutan sampel 1000 ppm (Sudaryat dkk., 2015).

2. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 10 mg dan dilarutkan menggunakan metanol p.a., digenapkan volumenya dalam labu ukur 100 mL. Sehingga, diperoleh konsentrasi larutan 100 ppm (Pertiwi dkk., 2016).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) DPPH

Larutan DPPH 100 ppm dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 2 mL metanol p.a. Dihomogenkan dan diinkubasi di tempat gelap pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya, larutan dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm (Pertiwi dkk., 2016).

c. Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Ditimbang serbuk baku kuersetin sebanyak 25 mg dan dilarutkan menggunakan metanol p.a., lalu dicukupkan volumenya dalam labu ukur 25 mL. Dihasilkan larutan induk baku kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk tersebut diencerkan menjadi 100 ppm. Dari larutan baku kuersetin 100 ppm dibuat larutan baku kuersetin dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm masing-masing sebanyak 10 mL (Pertiwi dkk., 2016).

d. Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Baku Kuersetin dan Sampel Teh Putih Celup A, B, dan C

Setiap konsentrasi larutan baku kuersetin dan larutan sampel teh putih celup A, B, dan C dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL larutan DPPH, lalu campuran dihomogenkan dan diinkubasi di tempat gelap selama 30 menit. Dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menginterpretasikan nilai % inhibisi dari

masing-masing konsentrasi baku kuersetin dan sampel teh putih celup A, B, dan C menggunakan persamaan (1) berikut:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi baku/sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \quad (1)$$

Selanjutnya, dibuat grafik antara %inhibisi dengan konsentrasi baku kuersetin maupun sampel teh putih celup A, B, dan C yang digambarkan terpisah, membentuk persamaan regresi linear $y = bx + a$. Aktivitas antioksidan dapat diestimasi berdasarkan nilai IC_{50} melalui persamaan regresi linear tersebut (Sepahpour et al., 2018):

$$IC_{50} (x) = \frac{50-a}{b} \quad (2)$$

3. Uji Aktivitas Antikolesterol

Metode yang digunakan adalah metode *Liebermann - Burchard*, maka pada setiap larutan yang digunakan ditambahkan pereaksi CH_3COOH dan H_2SO_4 . Pada penelitian ini, masing-masing pereaksi digunakan sebanyak 2,0 mL dan 0,1 mL.

a. Pembuatan Larutan Induk Kolesterol

Dibuat larutan baku induk kolesterol 1000 ppm dengan cara serbuk kolesterol ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan menggunakan kloroform dalam labu ukur 25 mL. Dilakukan pengenceran menjadi beberapa seri konsentrasi larutan baku kolesterol, yaitu 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm masing-masing sebanyak 10 mL sebagai larutan baku seri. Dari larutan baku induk kolesterol, dibuat pula larutan kolesterol konsentrasi 400 ppm sebanyak 25 mL untuk digunakan sebagai larutan kontrol negatif (Sianto dkk., 2022).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Larutan Baku Kolesterol

Larutan baku induk kolestserol 1000 ppm dipipet sebanyak 2,0 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard* di dalam tabung reaksi yang terlebih dulu dilapisi alumunium foil. Campuran larutan didiamkan 15 menit. Panjang gelombang maksimum ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm (Sianto dkk., 2022).

c. Penentuan *Operating Time*

Dilakukan pembuatan larutan seperti pada tahap penentuan panjang gelombang maksimum tanpa didiamkan 15 menit. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Absorbansi diamati setiap 2 menit hingga menit ke-30 untuk mengetahui waktu pengukuran yang paling stabil (Sianto dkk., 2022).

d. Pembuatan Kurva Baku Kolesterol

Larutan baku seri kolesterol tiap konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm) diambil sebanyak 2,0 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard* di dalam tabung reaksi yang terlebih dulu dilapisi alumunium foil (Sianto dkk., 2022).

e. Pembuatan Larutan Blanko

Diambil kloroform sebanyak 2,0 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard* di dalam tabung reaksi yang terlebih dulu dilapisi alumunium foil (Sianto dkk., 2022).

f. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Diambil larutan baku kolesterol 400 ppm sebanyak 2,0 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard* di dalam tabung reaksi yang terlebih dulu dilapisi alumunium foil (Sianto dkk., 2022).

g. Pembuatan Larutan Sampel Teh Putih Celup A, B, dan C

Masing-masing larutan induk sampel teh putih celup A, B, dan C diencerkan menggunakan kloroform menjadi konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm sebanyak 10 mL untuk tiap konsentrasinya (Putri dan Anggraini, 2022).

4. Verifikasi Metode

a. Linearitas

Larutan baku seri kolesterol konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm masing-masing dipipet sebanyak 1,0 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard*. Campuran diinkubasi selama 15 menit sesuai waktu yang diperoleh sebagai *operating time*. Satu per satu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Dalam Kementerian Kesehatan RI (2020) dan The United States Pharmacopeial (2024), linearitas diinterpretasikan berdasarkan nilai koefisien korelasi kuadrat ($r^2 \geq 0,98$), kemiringan harus tidak berbeda bermakna dari nol yang diperoleh dari kurva hubungan antara konsentrasi larutan baku kolesterol dan absorbansinya

b. Presisi

Larutan baku induk kolesterol 1000 ppm dipipet 1500 μL ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan menggunakan kloroform, menghasilkan konsentrasi larutan kolesterol 150 ppm. Larutan tersebut dipipet 1,0 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard*. Campuran diinkubasi selama 15 menit sesuai waktu yang diperoleh sebagai *operating time*. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Presisi dinyatakan sebagai *relative standard deviation* (RSD) dari seri pengukuran dengan minimal ditetapkan sebanyak 6 kali pengulangan (Kementerian Kesehatan RI, 2020). Nilai RSD ditetapkan dengan rumus berikut:

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

c. Batas Deteksi (*Limit of Detection*/ LOD) dan Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantitation*/ LOQ)

LOD dan LOQ dapat ditentukan berdasarkan respon standar deviasi dan pendekatan arah garis kurva kalibrasi (*slope*). Konsentrasi minimum analit yang masih dapat dideteksi pada perbandingan 3:1, sedangkan yang masih dapat diukur pada perbandingan 10:1 (Kementerian Kesehatan RI, 2020). Maka, nilai LOD dan LOQ dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$LOD = \frac{3 \times SD}{s}; LOQ = \frac{10 \times SD}{s}$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi

$\bar{X}$ = Rata-rata

s = *slope*

5. Pengujian Aktivitas Antikolesterol

Larutan sampel teh putih celup A, B, dan C setiap konsentrasi dipipet 2,0 mL ditambahkan larutan kolesterol 400 ppm sebanyak 2,0 mL. Divortex selama 10 menit, lalu ditambahkan pereaksi *Liebermann - Burchard*. Larutan diinkubasi selama 15 menit sesuai waktu yang diperoleh sebagai *operating time* pada suhu kamar hingga terjadi perubahan warna menjadi hijau. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Dihitung %penurunan kadar kolesterol berdasarkan persamaan di bawah (Anggraini dan Nabillah, 2018):

$$\% \text{Penurunan Kadar Kolesterol} = \frac{B - A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Absorbansi baku kolesterol 400 ppm

B = Absorbansi baku kolesterol 400 ppm + sampel teh putih celup

Setelah dihasilkan nilai % penurunan kadar kolesterol, ditentukan aktivitas antikolesterol dari sampel dengan berdasarkan nilai EC_{50} . Dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan antara konsentrasi sampel teh celup hijau terhadap %penurunan kadar kolesterol. Hasil persamaan regresi linear $y = bx + a$ digunakan untuk menghitung EC_{50} dengan persamaan berikut (Luhurningtyas et al., 2020):

$$EC_{50}(x) = \frac{50-a}{b}$$

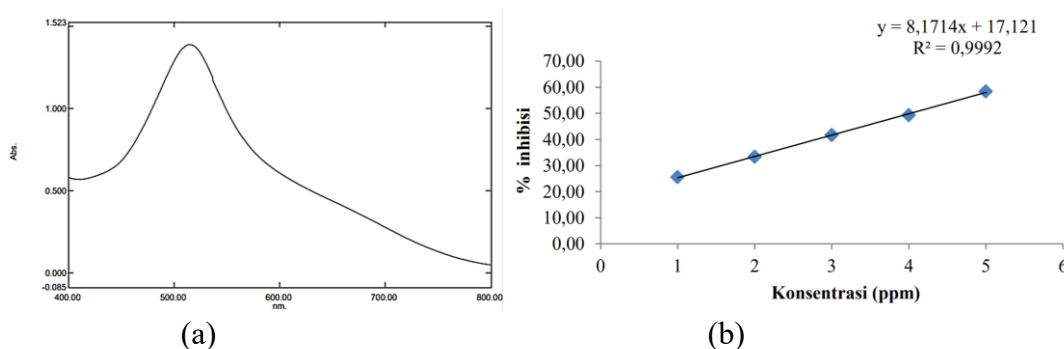
Analisis Data

Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan uji DPPH dan diinterpretasi berdasar nilai IC_{50} , sedangkan aktivitas antikolesterol diuji menggunakan metode *Liebermann - Burchard* dengan data EC_{50} . Untuk mengetahui pengaruh suhu penyeduhan terhadap aktivitas maka data IC_{50} dan EC_{50} diolah menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* lalu dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS. Diawali dengan uji normalitas (*Shapiro-Wilk*), kemudian uji homogenitas, dan data yang terdistribusi normal serta homogen dianalisis dengan uji *Repeated ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Saat ini, minat masyarakat terhadap penggunaan antioksidan mengalami peningkatan. Antioksidan yang berasal dari sumber alami lebih disukai dibanding sintetis. Hal tersebut berkorelasi dengan meningkatnya konsumsi teh di kalangan masyarakat. Sebagaimana diketahui, bahwa kandungan senyawa polifenol pada teh terutama katekin memiliki kemampuan sebagai antioksidan kuat. Guna mengetahui kebenaran adanya aktivitas antioksidan pada sampel teh putih celup yang dapat diuji dengan metode DPPH. Pengujian ini didasarkan pada pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis terhadap kapasitas antioksidan dalam menangkap radikal DPPH (Gulcin and Alwasel, 2023).



Gambar 1. (a) Panjang Gelombang Maksimum DPPH; (b) Kurva Kalibrasi Baku Kuersetin

Pada pengujiannya, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dengan tujuan untuk mendapatkan hasil absorbansi dan kepekaan analisis yang optimal. Dilakukan pada area tampak 400-800 nm dan menggunakan larutan DPPH 100 ppm yang dilarutkan dalam metanol p.a. Berdasarkan hasil yang disajikan dalam Gambar 1. radikal bebas DPPH yang larut dalam metanol p.a memberikan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 515 nm. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Molyneux (2004), bahwa radikal DPPH stabil bilamana diukur pada panjang

gelombang rentang area tampak 515-520 nm. Serapan ini berkaitan dengan terjadinya transisi $\pi-\pi^*$ dengan elektron tidak berpasangan yang merupakan karakteristik dari gugus kromofor dalam struktur aromatic DPPH yang memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi cahaya pada wilayah atau area spektrum tampak.

Selanjutnya, ditentukan aktivitas antioksidan larutan kuersetin dalam metanol p.a sebagai baku pembandingan. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} yang dihitung secara grafis dengan *plotting* %inhibisi sebagai parameter kemampuan suatu antioksidan dalam menangkalkan radikal bebas terhadap konsentrasi larutan baku (Sharma, 2022). Didapatkan persamaan regresi linear $y = 8,1714x + 17,121$ dengan nilai $R^2 = 0,9992$ yang mengartikan persamaan tersebut linear dan konsentrasi larutan baku memberikan kontribusi kuat terhadap %inhibisi. Baku kuersetin yang digunakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena diperoleh nilai IC_{50} sebesar 4,02 ppm ($IC_{50} < 50$ ppm) (Molyneux, 2004). Pada Tabel 1, menyajikan data nilai IC_{50} dari standar kuersetin dan sampel teh putih celup merek A, B, serta C yang diperoleh dari pengujian pada berbagai suhu.

Tabel 1. Nilai IC_{50} Sampel Teh Putih Celup

Sampel/ Baku	Suhu Penyeduhan ($^{\circ}C$)	Nilai IC_{50} (ppm)
Kuersetin	-	$4,02 \pm 0,11$
Merek A	55	$93,02 \pm 1,20$
	75	$79,33 \pm 1,50$
	95	$75,30 \pm 1,86$
Merek B	55	$96,50 \pm 1,23$
	75	$92,09 \pm 0,77$
	95	$87,46 \pm 0,98$
Merek C	55	$96,65 \pm 0,68$
	75	$92,12 \pm 0,98$
	95	$91,74 \pm 1,33$

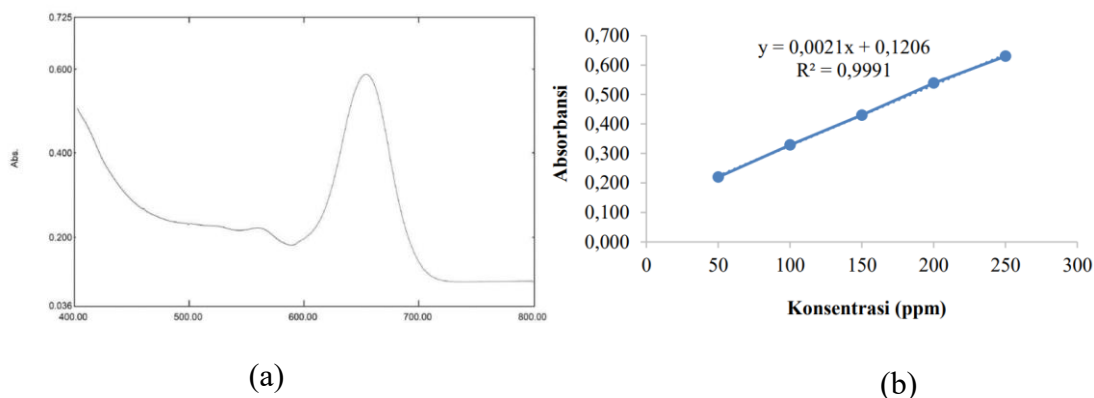
Berdasarkan data pada Tabel 1, diketahui bahwa ketiga sampel teh putih celup memiliki nilai IC_{50} yang lebih tinggi dibandingkan baku kuersetin. Artinya untuk dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH diperlukan teh putih celup dengan jumlah lebih banyak berkisar pada konsentrasi 75,30-96,50 ppm. Hasil pengujian ini serupa dengan penelitian Veiko et al. (2021), bahwa konstanta laji reaksi kuersetin lebih tinggi dan energi aktivasi yang lebih rendah dalam reduksi radikal DPPH dibandingkan dengan katekin. Hal ini disebabkan oleh struktur kuersetin memiliki lebih banyak gugus hidroksil pada posisi 3' dan 4' yang berperan penting dalam menstabilkan radikal bebas melalui resonansi serta pada posisi 3', 5', dan 7' yang berkontribusi pada donasi elektron. Sehingga, memungkinkan delokalisasi electron yang lebih efisien, terutama melalui sistem onjugasi $C2=C3-C=O$ pada cincin C dan gugus ortodihidroksil pada cincin B.

Aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari ketiga teh putih celup tergolong-antioksidan alami yang kuat karena IC_{50} berada pada rentang 50-100 ppm. Aktivitas antioksidan berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} , sehingga jika suatu senyawa memiliki IC_{50} tinggi maka aktivitas antioksidannya rendah dan sebaliknya (Sharma, 2022). Oleh karena itu, di antara ketiga sampel tersebut, sampel teh putih celup merek A yang diseduh pada suhu $95^{\circ}C$ menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi.

2. Pengujian Aktivitas Antikolesterol

Senyawa polifenol dalam teh pun memiliki aktivitas antikolesterol. Pengujian aktivitas antikolesterol dilakukan secara *in-vitro* menggunakan metode *Liebermann - Burchard*. Pada prinsipnya, reaksi terjadi ketika adanya penambahan asam asetat (CH_3COOH) anhidrat yang fungsinya untuk mengekstraksi kolesterol, memastikan tidak adanya air, dan membentuk turunan asetil dari

steroid (kolesterol). Juga ditambahkan asam sulfat pekat (H_2SO_4) sebagai katalis untuk mempercepat pembentukan kompleks warna pada kolesterol dengan memotong gugus hidroksil pada kolesterol lalu dioksidasi, sehingga menghasilkan kompleks berwarna hijau. Dengan metode ini dapat diketahui jumlah kolesterol bebas dalam sampel yang bereaksi terhadap senyawa berwarna hijau yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada area sinar tampak (Luhurningtyas et al., 2020; Rahardhian et al., 2020). Untuk mengukur respon senyawa terhadap kolesterol bebas secara akurat, maka ditentukan lebih dulu panjang gelombang maksimum baku kolesterol konsentrasi 100 ppm. Gambar 2 menunjukkan absorpsi baku kolesterol paling tinggi terjadi pada panjang gelombang 668 nm. Hasil yang didapatkan selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Anggraini dan Nabillah (2018), sehingga pengukuran absorbansi untuk menentukan aktivitas antikolesterol dilakukan pada panjang gelombang maksimumnya tersebut.



Gambar 2. (a) Panjang Gelombang Maksimum Kolesterol; (b) Kurva Kalibrasi Baku Kolesterol

Dalam pengujian menggunakan metode *Liebermann - Burchard*, perlu ditentukan waktu yang diperlukan untuk terjadinya reaksi pembentukan kompleks yang stabil. Hal ini dinamakan sebagai *operating time* yang tujuannya untuk meminimalisasi terjadinya kesalahan pengukuran (Lindawati dan Ningsih, 2020). Pada penelitian ini, ditentukan selama 30 menit dan setiap 2 menit diukur absorbansinya. Berdasarkan hasil pengukuran yang disajikan pada Tabel 2, diketahui bahwa stabilitas tercapai mulai menit ke-12 sampai menit ke-16. Maka dari itu, *operating time* ditetapkan pada menit ke-15 karena dalam waktu inilah reaksi warna *Liebermann - Burchard* sudah mencapai kestabilan dan dibuktikan pula dengan konsistensi absorbansi yang diperoleh. Temuan ini sejalan dengan penelitian Ressurreição et al. (2022) yang juga melaporkan bahwa *operating time* paling optimal antara menit ke-15 hingga ke-16.

Tabel 2. Hasil *Operating Time*

Waktu (menit ke-)	Absorbansi	Waktu (menit ke-)	Absorbansi
2	0,415	18	0,365
4	0,410	20	0,355
6	0,400	22	0,345
8	0,393	24	0,342
10	0,388	26	0,334
12	0,378	28	0,330
14	0,374	30	0,328
16	0,372		

Penentuan aktivitas antikolesterol dinyatakan sebagai nilai EC_{50} . Nilai ini dapat diketahui melalui persamaan regresi linear hubungan antara konsentrasi baku kolesterol dengan absorbansinya. Dengan menggunakan 5 variasi konsentrasi baku kolesterol diperoleh persamaan $y = 0,0021x + 0,1206$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9991 yang mendekati 1 menyatakan peningkatan konsentrasi berbanding lurus atau linear dengan peningkatan absorbansi analitnya.

Sebelum dilakukan uji aktivitas antikolesterol, metode analisis yang digunakan perlu diverifikasi terlebih dahulu. Sesuai dengan Kementerian Kesehatan RI (2020), verifikasi metode analisis guna memastikan bahwa metode *Liebermann - Burchard* dapat digunakan sesuai tujuannya yang dimaksud dalam kondisi penggunaan aktual dengan hasil yang akurat, konsisten, dan dapat diandalkan dalam pengujian aktivitas antikolesterol. Digunakan beberapa parameter karakteristik kinerja analitik dalam verifikasi metode *Liebermann - Burchard*, yaitu linearitas, akurasi, LOD, dan LOQ.

Linearitas sebagai parameter yang menunjukkan bahwa hasil uji proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada rentang yang ditetapkan (Kementerian Kesehatan RI, 2020; The United States Pharmacopeial, 2024). Sesuai dengan pedoman ICH, linearitas dievaluasi dengan menggunakan setidaknya lima konsentrasi berbeda. Nilai koefisien korelasi kuadrat menginterpretasikan linearitas, diperoleh hasil $r^2 = 0,9991$ memenuhi syarat keberterimaan yang dipersyaratkan dalam USP42-NF37 dimana $r^2 \geq 0,98$. Presisi merupakan ukuran reproduktibilitas atau repektabilitas dari suatu penerapan prosedur secara berulang terhadap sampling ganda maupun homogen (Kementerian Kesehatan RI, 2020). Analisis dilakukan pada sampel yang homogen konsentrasi 150 ppm dari batch yang sama dengan pengulangan sebanyak enam kali. Diperoleh hasil nilai persentase RSD 0,2980%, sehingga memenuhi persyaratan $RSD < 2\%$ dan hasil tersebut menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan mempunyai reproduktibilitas yang baik.

Penentuan batas deteksi (LOD) ditetapkan untuk mengetahui jumlah analit paling kecil yang dapat dideteksi dan konsentrasi analit terkecil yang dapat dihitung. Sedangkan batas kuantitasi (LOQ) sebagai karakteristik penetapan kuantitatif dari konsentrasi terendah analit yang ditetapkan dengan akurasi serta presisi yang masih dapat diterima dalam kondisi yang ditetapkan. Keduanya dinyatakan sebagai konsentrasi analit dalam sampel dan dapat membantu untuk menetapkan sensitivitas maupun kisaran kuantitatif dari metode yang digunakan. Hasil uji menunjukkan LOD memiliki nilai 15,118 ppm dan LOQ 50,395 ppm, sehingga metode *Liebermann - Burchard* yang digunakan memungkinkan untuk mengukur pada konsentrasi tersebut atau lebih tinggi. Perolehan hasil parameter verifikasi metode *Liebermann - Burchard* ini dapat menjamin keandalan dan akurasi hasil uji aktivitas antikolesterol, sehingga metode ini dapat digunakan secara efektif dalam penelitian pada sampel teh putih celup dan senyawa polifenolnya.

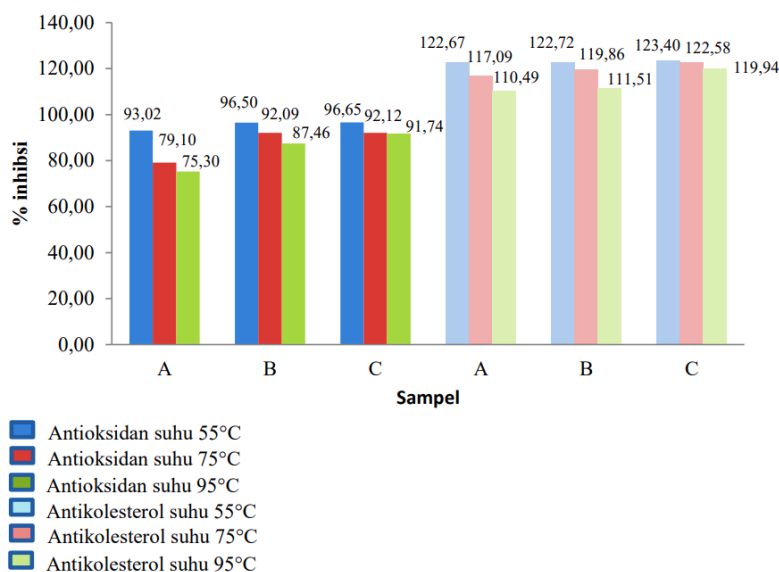
Setelah metode pengujian *Liebermann - Burchard* sudah terverifikasi, dilakukan pengujian aktivitas antikolesterol pada ketiga sampel teh putih celup dengan mengukur absorbansi dari masing-masing larutan uji di panjang gelombang 668 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antikolesterol dinyatakan dengan *effective concentration 50* (EC_{50}) penurunan kadar kolesterol yang dikalulasikan secara matematis ke dalam persamaan regresi linear pada kurva baku kolesterol. Hasil tersaji dalam Tabel 3.

Tabel 3. Nilai EC₅₀ Sampel Teh Putih Celup

Sampel	Suhu Penyeduhan (°C)	Nilai EC ₅₀ (ppm)
Merek A	55	122,67 ± 0,25
	75	117,09 ± 1,09
	95	110,49 ± 0,66
Merek B	55	122,72 ± 0,48
	75	119,86 ± 1,74
	95	111,51 ± 0,38
Merek C	55	123,40 ± 0,53
	75	122,58 ± 0,68
	95	119,94 ± 1,55

Hasil nilai EC₅₀ berbanding terbalik dengan tingkat aktivitas senyawa dalam sampel yang menurunkan kadar kolesterol, dimana semakin kecil nilai EC₅₀ maka semakin kuat aktivitas penurunan kadar kolesterolnya (Luhurningtyas et al., 2020). Penurunan kadar kolesterol pada sampel merek A dengan suhu penyeduhan 95°C menunjukkan nilai EC₅₀ yang paling kecil, sehingga pada sampel tersebut mempunyai potensi aktivitas antioksidan terkuat di antara sampel lainnya.

Data mengenai aktivitas antioksidan dan antikolesterol dari ketiga sampel teh putih celup yang diuji pada tiga variasi suhu penyeduhan disajikan secara terperinci pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dan Antikolesterol dalam Sampel Teh Putih Celup

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan dan diperoleh data-data di atas, maka terbukti bahwa benar ketiga sampel teh putih celup mempunyai aktivitas antioksidan dan antikolesterol. Hasil kedua aktivitas yang paling baik terdapat dalam sampel teh putih celup merek A dengan penyeduhan di suhu 95°C. Berdasarkan grafik pada Gambar 3, dapat diketahui bahwa semakin tinggi suhu penyeduhan, maka nilai IC₅₀ maupun EC₅₀ semakin kecil dan aktivitas keduanya semakin meningkat. Maka, benar terbukti penelitian yang dilakukan oleh Koch et al. (2017), menunjukkan bahwa kemampuan senyawa polifenol terutama katekin dalam teh putih celup dalam menghambat radikal bebas dan/atau menurunkan kadar kolesterol oleh dipengaruhi oleh suhu penyeduhan.

Untuk mengonfirmasi kebenaran pengaruh suhu terhadap perbedaan aktivitas antioksidan dan antikolesterol pada sampel dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS. Data IC₅₀ dan EC₅₀ diuji

parametrik *Repeated* ANOVA karena terdapat lebih dari dua kelompok uji. Perolehan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas seluruh hasil IC_{50} dan EC_{50} dengan variasi suhu penyeduhan memiliki nilai $p.Sig > 0,05$ sehingga keseluruhan data terdistribusi normal dan homogen. Maka, masing-masing ANOVA adalah valid.

Tabel 4. Hasil Uji Statistik *Repeated* ANOVA

Variabel	p.Sig	Variabel	p.Sig
IC_{50} A (55°C)	0,033*	EC_{50} A (55°C)	0,016*
IC_{50} A (75°C)		EC_{50} A (75°C)	
IC_{50} A (95°C)		EC_{50} A (95°C)	
IC_{50} B (55°C)	0,028*	EC_{50} B (55°C)	0,004*
IC_{50} B (75°C)		EC_{50} B (75°C)	
IC_{50} B (95°C)		EC_{50} B (95°C)	
IC_{50} C (55°C)	0,027*	EC_{50} C (55°C)	0,233
IC_{50} C (75°C)		EC_{50} C (75°C)	
IC_{50} C (95°C)		EC_{50} C (95°C)	

Hasil analisis parametrik *Repeated* ANOVA yang tersaji dalam Tabel 4, menunjukkan nilai signifikansi semua variabel kecuali pada variabel EC_{50} C diperoleh $p.Sig < 0,05$. Ini menginterpretasikan bahwa adanya perbedaan aktivitas baik antioksidan maupun antikolesterol yang signifikan terhadap variasi suhu. Sebagaimana disebutkan sebelumnya bahwa semakin tinggi suhu maka aktivitasnya semakin baik. Hal ini, terjadi karena semakin tinggi suhu penyeduhan dapat meningkatkan kecepatan reaksi dan meningkatkan kemampuan memecah dinding sel daun teh yang pada akhirnya memungkinkan senyawa polifenol katekin lebih mudah terlarut ke dalam air seduhan. Berdasarkan penelitian ini, menunjukkan bahwa ketiga sampel teh putih celup terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan antikolesterol, serta kondisi optimal penyeduhan dilakukan selama 9 menit pada suhu 95°C.

KESIMPULAN

Teh putih celup (*Camellia sinensis* L.) merek A, B, dan C memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel teh putih celup merek A ($IC_{50} = 75,30 \pm 1,86$ ppm). Nilai IC_{50} sampel A mendekati nilai IC_{50} baku kuersetin ($IC_{50} = 4,02 \pm 0,11$ ppm) yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Selain itu, ketiga sampel memiliki aktivitas antikolesterol, dengan sampel A memiliki nilai EC_{50} tertinggi. Untuk memperoleh hasil penyeduhan teh putih celup yang optimal, suhu 95°C selama 9 menit terbukti memberikan aktivitas antioksidan dan antikolesterol paling baik. Variasi suhu penyeduhan secara statistik ($p.Sig < 0,05$) memberikan pengaruh signifikan terhadap aktivitas tersebut. Dengan demikian, teh putih celup A suhu penyeduhan 95°C memiliki aktivitas antioksidan dan antikolesterol yang paling baik di antara ketiganya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D. I., & Nabillah, L. F. (2018). Jurnal Kimia & Sains. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 2(21), 54–58.
- Badan Pusat Statistik. (2023). *Statistik Teh Indonesia 2022* (Issue Volume 16). Badan Pusat Statistik.
- Da Ressurreição, S., Pedreiro, S., Batista, M. T., & Figueirinha, A. (2022). Effect of Phenolic Compounds from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Leaves on Micellar Solubility of Cholesterol. *Molecules*, 27(21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217338>

- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hilal, Y. (2017). Open Access Review Article Morphology, Manufacturing, Types, Composition and Medicinal Properties of Tea (*Camellia sinensis*). *International Journal of Basic & Applied Sciences*, June.
- Ho, K. K. H. Y., Haufe, T. C., Ferruzzi, M. G., & Neilson, A. P. (2018). Production and polyphenolic composition of tea. *Nutrition Today*, 53(6), 268–278. <https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000304>
- Islam, M. S. (2011). Effects of the aqueous extract of white tea (*Camellia sinensis*) in a streptozotocin-induced diabetes model of rats. *Phytomedicine*, 19(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.06.025>
- Kementerian Kesehatan RI. (2020). *Farmakope Indonesia* (VI). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Koch, W., Kukula-Koch, W., & Głowniak, K. (2017). Catechin composition and antioxidant activity of black teas in relation to brewing time. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1694–1699. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0235>
- Lindawati, N. Y., & Ningsih, D. W. (2020). AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL EKSTRAK ETANOL BUAH KIWI HIJAU (*Actinidia deliciosa*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 183–191. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.344>
- Luhurningtyas, F. P., Vifta, R. L., Syarohmawati, N., & Candra, M. A. (2020). Cholesterol Lowering Effect of Chitosan Nanoparticles Using Parijoto Fruits Extract. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 17(2), 102–111. <https://doi.org/10.24071/jpsc.002017>
- Luo, K., Ma, C., Xing, S., An, Y., Feng, J., Dang, H., Huang, W., Qiao, L., Cheng, J., & Xie, L. (2020). White tea and its active polyphenols lower cholesterol through reduction of very-low-density lipoprotein production and induction of LDLR expression. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 127(April), 110146. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110146>
- Molyneux P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(May), 211–219.
- Pertiwi, R. D., Yari, C. E., & Putra, N. F. (2016). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL LIMBAH KULIT BUAH APEL (*Malus domestica* Borkh.) TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), 81–92. <https://doi.org/10.51352/jim.v2i1.51>
- Purwaningtyas, E. F., & Shobib, A. (2022). Physicochemical Characteristics of White Tea Product of PT. Perkebunan Nusantara IX (Kaligua Gardens) Pandansari Village, Paguyangan District, Brebes Regency. *Advance Sustainable Science Engineering and Technology*, 4(1), 0220106. <https://doi.org/10.26877/asset.v4i1.11854>
- Putri, R., & Anggraini, D. I. (2022). the Potency of Cucumber (*Cucumis Sativus* L.) Peel Extract As Anticholesterol. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 8(1), 90–100. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i1.3493>
- Rahardhian, M. R. R., Yuniarti, N., Ariani, L. W., & Suharsanti, R. (2020). In Vitro Determination of Antioxidant Activity , Total Phenolics , Total Flavonoid , Anti-cholesterol of Extracts Saffron (*Crocus sativus*). *Journal of Global Pharma Technology*, 12(9), 223–230.
- Sepahpour, S., Selamat, J., Manap, M. Y. A., Khatib, A., & Razis, A. F. A. (2018). Comparative

analysis of chemical composition, antioxidant activity and quantitative characterization of some phenolic compounds in selected herbs and spices in different solvent extraction systems. *Molecules*, 23(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23020402>

- Sharma, K. R. (2022). *Quantification of Phenolic and Flavonoid Content , Antioxidant Activity , and Proximate Composition of Some Legume Seeds Grown in Nepal*. 2022.
- Sianto, B. V., Rollando, R., & Tambun, S. H. (2022). Uji Aktivitas Antikolesterol Kombinasi Ekstrak Daun Afrika Vernonia amygdalina dan Daun Pinus Pinus merkusii Secara In Vitro. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 3(1), 322–333. <https://doi.org/10.33479/sb.v3i1.202>
- Sudaryat, Y., Kusmiyati, M., Pelangi, C. R., Rustamsyah, A., & Rohdiana, D. (2015). Antioxidant activity of ten grades of Indonesia black tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) liquor. *Jurnal Sains Teh Dan Kina*, 18(2). <https://doi.org/10.22302/pptk.jur.jptk.v18i2.70>
- The United States Pharmacopeial. (2024). *USP 42-NF 37*. https://doi.org/https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_01
- Veiko, A. G., Lapshina, E. A., & Zavodnik, I. B. (2021). Comparative analysis of molecular properties and reactions with oxidants for quercetin, catechin, and naringenin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476(12), 4287–4299. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04243-w>
- Wang, S., Gan, Z., Wang, B., Zhang, N., Li, K., & Yao, T. (2022). Effect of brewing conditions on polyphenols in the dark tea (*Camellia sinensis* L.) infusions: content, composition and antioxidant activities. *Food Science and Technology (Brazil)*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.36322>
- Wong, M., Sirisena, S., & Ng, K. (2022). Phytochemical profile of differently processed tea: A review. *Journal of Food Science*, 87(5), 1925–1942. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16137>
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., & Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*, 6(2), 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.01.001>