

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT DARI DAUN TEH
(*Camellia sinensis*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN
PADA MINYAK KEDELAI**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
gelar Sarjana Sains (S.Si.) Program Studi Kimia
pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Jogjakarta**



disusun oleh :

**HUSNA AMALYA MELATI
No Mhs : 99 612 001**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
2003**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT DARI DAUN TEH
(*Camellia sinensis*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN
PADA MINYAK KEDELAI**

Oleh :
HUSNA AMALYA MELATI
No Mhs : 99 612 001

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji
Skripsi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

30 Agustus 2003

Tanggal :

Dewan Penguji

Tanda tangan

1. Drs. Allwar, M.Sc



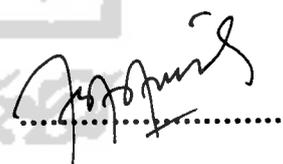
2. Riyanto, M.Si



3. Dr. H. Chairil Anwar



4. Is Fatimah, M.Si



Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



(Jaka Nugraha, M.Si)

PERSEMBAHAN

*".... Sungguh bersama kesukaran pasti ada kemudahan.
Dan bersama kesukaran pasti ada kemudahan. Karena itu, bila
selesai suatu tugas, mulailah tugas yang lain dengan sungguh-
sungguh. Hanya kepada Tuhanmu hendaknya kau berharap"*
(Qs. Al-Insyirah : 1-8)

*Dari Abu Hurairah ra. Bahwasanya Rasulullah SAW bersabda : "
Barang siapa menempuh jalan untuk menuntut ilmu, maka Allah
memudahkan bagi orang itu karena ilmu tersebut jalan menuju surga."*
(HR, Muslim)

*"Jangan melangkah di jalan Keputusan, di alam ini terhampar
berjuta harapan. Jangan pergi ke arah kegelapan, di alam ini
terdapat banyak cahaya..."*
(Imam Syahid Hasan Al Banna)

*Ku Persembahkan Skripsi Ini
Kepada Sang Rabbul Izzati sebagai Amal Ibadahku
Kepada Dienul Islam
Kepada Bunda Ummu Abidah & Abiya Sukartono Tercinta
Kepada Akhi Kabir Rifky Arif Rahman Tersayang
Kepada Akhi Akhmad Joko Tetuko Tersayang
Kepada Teman Sejatiku Kelak
Kepada Ikhwah Fillah yang senantiasa Istiqomah*

“Berjuta kata Jazakumullah Khairan Katsira, Melati sampaikan kepada saudara-saudariku atas curahan perhatian, kasih sayang, cinta, do'a, taujih/tausiyah, dorongan, semangat, maaf, ukhuwah dan semua yang diberikan hingga Melati meraih satu diantara berbagai cita, asa, thumuhah, dan amanah yang Melati miliki. “

✧ Murobbiyahku yang telah membawaku kedaerah yang baru hingga hidupku kini ceria. Mbak Erni, Mbak Tina, Muryana, Tuti, Erika, Indah, dan Erna dalam keluarga indah. jazakillah bi ahsanil jaza' untuk persaudaraan kita selama ini dalam mencari warna seindah pelangi ✧

♥♥ Adinda-adinda dalam keluarga manis Lastri, Niken, Nita dan Putri, kalian adalah penyemangatku ♥♥

☺ Saudariku di Annida family, Lia dan Fithri. Saudariku di Ar-Royan, Kasturi, Azizah, Asy-Syaffa, A-97. Saudariku di MAHNET, Majelis on 7, Formusi, all Kemuslimahan VII. Saudariku Hanna, Ratih, Reni, M'Yuli, Oot, Rifa, Beta, Eva, M'Nana, M'Nani, Erni, M'Budi, M'Shofi ☺

☛ Ustadz-Ustadzahku, All Munsyid (Izzis, Ruhul Jadid, Raihan, Gradasi, JeVe, Brothers, et.all) atas nasyidnya sebagai sumber amunisi ghirohku. Saudara-saudari seperjuanganku di KAMMI, Jama'ah Al-Ghuroba, Kodisia, All LDF VII, Forsalam, Komunal, TTs, PK Sej. Saudaraku Decki, Faris, Rusydi Ridho Jazakallah untuk taujihnya dan doanya dari Ranah Minang. ☛

✧ Teman-temanku Chemist crew Uthe, Teten, M'Fat, Rahma, Nita, Hilmy, Puji, Eni, Sri, Thorik, Yanto, Heri, Rizal, Derry, Upu, Tatang, Reno dan keluarga besar kimia ✧

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh

Segala puji hanya bagi Allah Azza wa Jalla yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya kepada kita semua. Dia-lah Rabbul Izzati yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang dan atas kehendak-Nya skripsi ini yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat dari Daun Teh (*Camellia sinensis*) sebagai Antioksidan pada Minyak Kedelai” dapat terselesaikan. Sholawat dan salam selalu kita haturkan kepada Rasulullah SAW, uswah kita dalam menapaki kehidupan penuh berkah dalam Islam, keluarga, shahabat, dan ummat Islam di seluruh dunia yang selalu Istiqomah di jalan-Nya hingga akhir zaman.

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, dengan judul Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat dari Daun Teh (*Camellia sinensis*) sebagai Antioksidan pada Minyak Kedelai.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan kepada :

1. Bapak Jaka Nugraha, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
2. Bapak Riyanto, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
3. Bapak Dr. Chairil Anwar selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta telah memberikan dukungan sampai penyusunan skripsi ini selesai.

4. Ibu Is Fatimah, M.Si selaku Dosen Pembimbing II dan Kepala Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta telah memberikan dukungan sampai penyusunan skripsi ini selesai.
5. Bapak Drs. Allwar, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu, memberikan sumbangsih, dan dukungan yang sangat berarti besar bagi penulis selama ini.
6. Komunitas Laboratorium Ilmu Kimia Pak Irman, Pak Tatang, Pak Luluk, Pak Arso, dan Pak Dwi yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian.
7. Seluruh Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
8. Seluruh mahasiswa jurusan kimia khususnya angkatan '99.
9. Seluruh teman seperjuangan di Jama'ah Al-Ghuroba, KAMMI, KODISIA, LEM-FMIPA, dan HMK.
10. Seluruh civitas akademika Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

Dan semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi ini. Jazakumullah bi ahsanil jaza'.

Skripsi ini tentu saja masih jauh dari sempurna, untuk itu penyusun sangat mengharapkan kritik dan saran yang dapat dijadikan sebagai kajian untuk penelitian selanjutnya agar penelitian ini dapat bermanfaat bagi kemaslahatan umat.



Jogjakarta, Agustus 2003

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB III DASAR TEORI	8
3.1 Tanaman Teh	8
3.2 Lemak dan Minyak	10
3.2.1 Asam lemak	12
3.2.2 Minyak kedelai	12
3.3 Kerusakan Lemak dan Minyak	15

3.4 Autooksidasi.....	16
3.5 Antioksidan Polifenol Daun Teh	18
3.6 Mekanisme Kerja Antioksidan	21
3.7 Uji Asam Tiobarbiturat (TBA).....	22
3.8 Uji Tiosianat	23
3.9 Bilangan Peroksida	24
3.10 Spektrofotometri UV-Vis	25
3.11 Ekstraksi	27
3.12 Hipotesis Penelitian.....	29
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	30
4.1 Alat dan Bahan	30
4.1.1 Alat	30
4.1.2 Bahan	30
4.2 Sampel	31
4.3 Cara Kerja	32
4.3.1 Pembuatan minyak kedelai	32
4.3.2 Penyediaan serbuk daun teh	32
4.3.3 Ekstraksi daun teh	32
4.3.4 Pengujian aktivitas antioksidan	33
4.3.4.1 Preparasi sampel	33
4.3.4.2 Metode pengujian tiosianat	33
4.3.4.3 Metode pengujian asam tiobarbiturat (TBA)	33
4.3.5 Bilangan peroksida	34

4.3.5.1 Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum	34
4.3.5.2 Pembuatan kurva baku kompleks iod-amilum	34
4.3.5.3 Penentuan absorbansi sampel	35
BAB V HASIL dan PEMBAHASAN	36
5.1 Ekstraksi Daun Teh	36
5.2 Uji Aktivitas Antioksidan	38
5.2.1 Metode asam tiobarbiturat (TBA)	39
5.2.2 Metode tiosianat	41
5.2.3 Bilangan peroksida	44
BAB VI PENUTUP	49
6.1 Kesimpulan	49
6.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	
Lampiran 1. Data absorbansi uji aktivitas antioksidan	
Lampiran 2. Skematika Kerja	
Lampiran 3. Hasil pengukuran absorbansi dan panjang gelombang dengan spektrofotometer UV-Vis	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi kimia kacang kedelai atas dasar berat kering	13
Tabel 2. Komposisi asam lemak minyak kedelai	14
Tabel 3. Standar mutu minyak kedelai	15
Tabel 4. Hasil absorbansi dan bilangan peroksida sampel	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kimia antioksidan sintetik	3
Gambar 2. Beberapa komponen polifenol daun teh.....	21
Gambar 3. Bagan instrumen spektrofotometer UV-Vis	26
Gambar 4. Kurva absorbansi versus waktu metode asam tiobarbiturat	40
Gambar 5. Kurva absorbansi versus waktu metode tiosianat	43
Gambar 6. Kurva baku penentuan bilangan peroksida	45



**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT
DARI DAUN TEH (*Camellia sinensis*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN
PADA MINYAK KEDELAI**

**Oleh :
Husna Amalya Melati**

INTISARI

Telah dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak daun teh. Ekstraksi dilakukan dengan cara sokhletasi 30 g daun teh segar menggunakan pelarut etil asetat setelah sebelumnya digunakan n-heksana untuk menghilangkan fraksi non polar. Ekstrak etil asetat diuapkan dengan evaporator buchii untuk menghasilkan produk. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode asam tiobarbiturat, metode tiosianat, dan penentuan bilangan peroksida dengan spektrofotometri UV-Vis pada sampel minyak tanpa penambahan antioksidan sebagai pembanding, sampel minyak dengan penambahan ekstrak daun teh, dan sampel minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHA (Butylated Hydroxy Anisole) sebagai kontrol.

Ekstraksi yang dihasilkan berupa padatan berwarna coklat kehitaman dengan berat 1,84 g. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan adanya senyawa aktif ekstrak daun teh yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Urut-urutan aktivitas antioksidan sebagai berikut : BHA > ekstrak daun teh > minyak tanpa penambahan antioksidan.

kata kunci : *antioksidan, daun teh, spektrofotometer UV-Vis*

**ACTIVITY TEST OF ETHYL ACETATE EXTRACT
FROM TEA LEAVES (*Camellia sinensis*) AS ANTIOXIDANT
ON SOYBEAN OIL**

**By :
Husna Amalya Melati**

ABSTRACT

Antioxidant activity of tea leaves extract has been tested. Extracted by sokhletation thirty gram fresh tea leaves use the ethyl acetate solven after previously used by n-hexane solven to remove the fraction of non polar. The extract of ethyl acetate was evaporated by evaporator buchii to yield the product. Antioxidant activities test were examined with thiobarbituric acid methods, thiocyanate methods, and determination of peroxide value using UV-Vis spectrophotometre at oil sample without addition antioxidant compounds as comparator, oil sample with the addition of tea leaves extract, and oil sample with the addition of antioxidant sintetic BHA (Butylated Hydroxy Anisole) as control.

The tea leaves extract produced brown dark solid weighing 1,84 g. Test of antioxidant activity showed that tea leaves extract had active compound which can be used as antioxidant. The following antioxidant activity medley : BHA > tea leaves extract > oil without the addition of antioxidant.

key word : *antioxidant, tea leaves, UV-Vis spectrophotometre*



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak kedelai merupakan salah satu minyak nabati yang banyak dikonsumsi di Indonesia dan di negara-negara tropis lainnya. Kandungan lipida dari biji kedelai cukup tinggi, sekitar 20% maka kedelai lazim diambil minyaknya. Seperti juga bahan pangan lain yang mengandung lemak, masalah utama yang dijumpai pada minyak kedelai adalah proses ketengikan. Ketengikan ini dapat timbul pada saat pengolahan, pada saat penyimpanan maupun pada saat pemakaiannya. Proses pengolahan dan pemakaian minyak dengan pemanasan pada suhu tinggi dan lama selain menimbulkan perubahan bau dan rasa yang tidak enak juga akan merusak mutu minyak.

Proses pengolahan minyak dengan perlakuan pemanasan yang berulang-ulang pada suhu tinggi akan menghasilkan minyak dengan warna kuning kecoklatan. Selain itu pemanasan pada suhu tinggi dan lama juga akan merusak keberadaan tokoferol yaitu zat antioksidan alami dalam minyak kedelai.

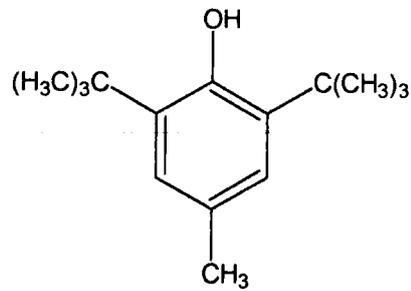
Pada umumnya masyarakat cenderung menggunakan minyak goreng secara berulang-ulang atau lebih umum dikenal dengan minyak jelantah. Pemakaian minyak secara berulang-ulang ini selain menurunkan mutu minyak goreng juga dapat membahayakan bagi pemakainya karena dalam minyak jelantah terdapat berbagai senyawa kimia yang bersifat *toksik* sebagai hasil reaksi oksidasi. Dengan demikian perlu adanya suatu tindakan untuk mengurangi atau menghambat turunnya mutu

minyak goreng. Zat yang digunakan untuk mengurangi atau menghambat turunnya mutu minyak goreng ini adalah zat antioksidan.

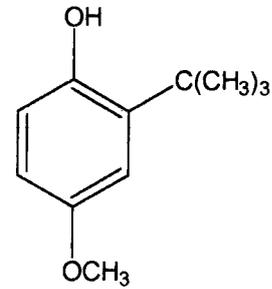
Antioksidan merupakan persenyawaan kimia yang mempunyai aktivitas menghambat kerusakan lemak dan minyak akibat proses oksidasi dengan cara menghambat terbentuknya radikal bebas pada langkah inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada langkah propagasi. Beberapa antioksidan terdapat secara alami di alam dan ada pula yang berupa hasil sintesis dalam pabrik kimia.

Sebagian besar antioksidan yang banyak digunakan saat ini adalah antioksidan sintetik seperti Butylated Hydroxy Toluene (BHT) dan Butylated Hydroxy Anisole (BHA). Antioksidan ini dapat mengalami kerusakan pada pemanasan suhu tinggi yaitu akan hilang keluar dari media pemanasan oleh volatilisasi (Kim and Pratt, 1992). Peled et. al (Kim and Pratt, 1992) mengemukakan rendahnya efektifitas BHT dalam memperlambat kerusakan minyak pada pemanasan, sehingga dapat menyebabkan BHT menghilang karena volatilisasi dan atau kerusakan oleh oksidasi. Hal yang sama telah ditemukan oleh Freeman et. al dan Augustin et. al (Kim and Pratt, 1992) yang mengemukakan ketidakefektifan BHA dan BHT pada kondisi pemanasan suhu tinggi.

Antioksidan sintetik yang banyak digunakan industri pangan saat ini yaitu BHA dan BHT memiliki kekhawatiran akan efek sampingnya terhadap kesehatan (Suwandi dan Hidayat, 1995). Seperti yang dilaporkan Chang et. al (1997) bahwa antioksidan sintetik terutama BHA dan BHT dapat menimbulkan komponen toksik atau karsinogenik didalam tubuh manusia dengan cara meningkatkan enzim mikrosomal. Beberapa antioksidan sintetik yang biasa digunakan pada bahan makanan disajikan dalam gambar 1.



**Butylated Hydroxytoluene (BHT)
atau 2,6-di-tert-p-hidroksi toluen**



Butylated Hydroxy Anisole (BHA)

Gambar 1. Struktur kimia antioksidan sintetik

Dalam keadaan demikian penggunaan antioksidan alami merupakan cara yang paling aman untuk menghindari adanya efek samping. Untuk keperluan tersebut antioksidan bahan alam yang mudah diperoleh dalam jumlah besar, stabil pada suhu tinggi, dan tanpa efek samping sangat menjanjikan.

Indonesia sebagai salah satu negara tropis memiliki sumber daya alam yang sangat melimpah. Salah satunya adalah kimia hasil alam yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Tanaman teh adalah salah satu dari sekian banyak jenis tanaman yang tumbuh dengan subur di wilayah Indonesia sebagai tanaman perkebunan. Teh selain sebagai penghasil minuman yang sangat digemari, ternyata memiliki banyak manfaat oleh adanya kandungan senyawa kimia yang dimilikinya. Kandungan senyawa kimia yang ada didalam daun teh antara lain adalah polifenol, kafein, tannin, vitamin, dan lain-lain. Salah satu kandungan daun teh yaitu polifenol memiliki banyak kegunaan antara lain pada beberapa aktivitas biokimia dalam menghambat mutasi bakteri, menghambat aktivitas transkrip balik HIV, efek antikaries, aktivitas antiviral, pencegahan dari kanker, ternyata juga memiliki aktivitas antioksidan pada lemak dan minyak.

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun teh. Ekstrak etil asetat daun teh diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan alat yang disebut sokhlet. Pelarut yang digunakan adalah etil asetat yang dapat melarutkan ekstrak daun teh yang diharapkan mengandung senyawa antioksidan sehingga ekstrak diperoleh dalam jumlah maksimal.

Oleh karena itu dari penelitian ini diharapkan dapat memanfaatkan secara optimal zat antioksidan alami dari ekstrak etil asetat daun teh terhadap minyak kedelai, sehingga diperoleh antioksidan alami untuk minyak kedelai yang aman dari efek samping. Selain itu, diharapkan pula nantinya mutu minyak kedelai yang diproduksi semakin meningkat dan turut bersaing di pangsa pasar internasional.

1.2 Perumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan suatu masalah yaitu apakah ekstrak etil asetat daun teh memiliki aktivitas sebagai antioksidan pada minyak kedelai ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etil asetat daun teh memiliki aktivitas sebagai antioksidan pada minyak kedelai.

1.4 Manfaat Penelitian

Masyarakat (pembaca) mengetahui bahwa ekstrak etil asetat daun teh memiliki aktivitas sebagai antioksidan pada minyak kedelai.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Telah banyak dilakukan penelitian untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada minyak yang menjadi tengik. Definisi ketengikan berhubungan dengan bau dan rasa, tetapi tidak mudah untuk mengetahui adanya proses ketengikan pada tahap permulaan. Untuk itu diperlukan penelitian terhadap besar-besaran seperti angka peroksida, angka iod, angka penyabunan, angka asam, dan lain-lain.

Ketengikan merupakan kerusakan atau perubahan bau dan rasa dalam lemak atau bahan pangan berlemak. Bentuk kerusakan yang paling penting disebabkan oleh aksi oksigen udara terhadap minyak. Kerusakan karena oksidasi oleh oksigen udara mudah terjadi jika bahan yang mengandung lemak dibiarkan kontak dengan udara dan laju proses oksidasinya tergantung dari sifat lemak dan penyimpanannya (Triebold, 1963).

Reaksi oksidasi akan menimbulkan bau yang tidak enak pada minyak dan lemak juga menyebabkan kerusakan vitamin A, D, E, K, dan C serta asam lemak esensial. Proses oksidasi minyak atau lemak terjadi melalui pembentukan peroksida menyebabkan molekul menjadi tidak stabil sehingga akan mengalami dekomposisi membentuk asam-asam rantai pendek, alkohol, aldehid, dan keton (produk oksidasi sekunder). Produk oksidasi sekunder inilah yang bertanggungjawab terhadap bau dan rasa minyak mengalami reaksi oksidasi. Jadi ketengikan yang timbul dalam minyak terjadi karena adanya aldehid bukan karena peroksida, kenaikan bilangan

peroksida hanya merupakan indikator bahwa minyak tidak lama lagi akan menjadi tengik (Ketaren, 1986).

Panas dan cahaya adalah faktor lingkungan yang mempercepat reaksi autooksidasi. Hal ini dapat terjadi karena ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh mampu menangkap sumber energi dari luar, seperti energi panas dan cahaya yang kemudian digunakan untuk mengeksitasikan elektron ke tingkatan energi yang lebih tinggi. Bila elektron yang tereksitasi ini kembali ke tingkat dasar, maka kelebihan energinya akan dilepas dalam bentuk panas, cahaya atau digunakan untuk reaksi. Dalam banyak hal peristiwa ini mengakibatkan pemutusan homolitik menjadi atom atau radikal bebas tergantung pada besarnya energi yang diserap (Triebold, 1963).

Chu dan Juneja (1997) menyebutkan bahwa seduhan teh terdiri dari beberapa komponen antara lain polifenol, kafein, teanin, dan vitamin. Seduhan teh memiliki flavour dan rasa yang spesifik yaitu memberikan efek segar. Komplek polifenol teh mempunyai efek antioksidan dan sifat-sifat pengobatan. Selain itu polifenol teh juga menghambat pertumbuhan mikrobial (Yamamoto, et. al., 1997).

Jay (1986) juga menyebutkan bahwa meskipun senyawa antioksidan (fenol) dalam makanan terutama untuk mencegah oksidasi lipid, namun dapat juga menghambat aktivitas mikrobial. Lebih spesifik disebutkan bahwa senyawa fenolik teh menghambat bakteri penyebab kerusakan gigi (bakteri kariogenik) yaitu *S. mutans* dan *S. sobrius*, sehingga dapat mencegah kerusakan gigi (Yamamoto, et. al., 1997).

Antioksidan alami antara lain adalah tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, dan asam askorbat. Antioksidan alam yang banyak ditemukan dalam

minyak nabati adalah tokoferol. Tokoferol ini banyak memiliki ikatan rangkap yang mudah dioksidasi sehingga akan melindungi lemak dari oksidasi (Winarno, 1991).

Selama isolasi minyak dari tumbuhan, tokoferol juga teroksidasi. Pada minyak jagung, sebelum dimurnikan kandungan tokoferolnya 110 mg/100 g. Oleh sebab itu dalam proses akhir minyak masih ditambahkan dengan antioksidan. Senyawa alam lain yang bagus digunakan sebagai antioksidan adalah golongan flavonoid. Flavanones dan flavanols merupakan komponen fenol yang banyak tersebar pada jaringan tumbuhan, dimana mereka bertindak sebagai antioksidan alam (Winarno, 1991).

Efektifitas antioksidan fenolat tergantung adanya gugus hidroksil bebas. Potensi aktivitasnya diperbesar oleh adanya substitusi gugus lain yang terikat pada posisi *ortho* dan *para* pada cincin aromatis. Substituen tersebut dapat mempengaruhi efisiensi senyawa fenol karena pengaruhnya terhadap banyaknya elektron dari oksigen hidroksil dan pengendaliannya terhadap reaksi dari bentuk resonansi radikal bebas fenoksi (Tranggono dkk., 1990).

Antioksidan yang baik adalah mempunyai delokalisasi efektif dari elektron tak berpasangan atau mempunyai bentuk resonansi yang lebih efektif. Substitusi pada posisi *ortho* dan *para* lebih efektif dari pada posisi *meta*. Faktor lain yang berpengaruh pada aktivitas antioksidan adalah ukuran gugus tersubstitusi (Scott, 1965).

BAB III

DASAR TEORI

3.1 Tanaman Teh

Kata teh (*Camellia sinensis*) berasal dari Cina. Orang Cina daerah Amoy menyebut teh dengan *tay*. Cina daerah Kanton menyebutnya *cha*. Nama ini kemudian menyebar ke mancanegara dengan penyebutan yang sedikit berbeda. Orang Inggris menyebutnya *tea*. Di daerah Spanyol diucapkan *te*. Orang Belanda menyebutnya *thee*. Di Perancis disebut *the*. Di Jerman disebut *tee*. Keanekaragaman nama ini menunjukkan bahwa teh sudah banyak dikenal. Menurut silsilah kekerabatan dalam dunia tumbuh-tumbuhan, tanaman teh termasuk kedalam :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Class : Dicotyledoneae
Ordo : Guttiferales
Famili : Theaceae
Genus : *Camellia*
Spesies : *Camellia sinensis*

Diseluruh pelosok Indonesia aneka produk teh bisa dijumpai sehari-hari. Teh bisa diminum panas atau dingin, sebagai minuman penyegar atau obat. Banyak pula yang mencampurkan bahan-bahan tertentu untuk mengobati berbagai penyakit.

Tanaman teh berbentuk pohon. Tingginya bisa mencapai belasan meter. Namun, tanaman teh di perkebunan selalu dipangkas untuk memudahkan pemetikan, sehingga tingginya 90-120 cm.

Mahkota tanaman teh berbentuk kerucut. Daunnya berbentuk jorong atau agak bulat telur terbalik atau lanset. Tepi daun bergerigi. Daun tunggal dan letaknya hampir berseling. Tulang daun menyisip. Permukaan atas daun muda berbulu halus, sedangkan permukaan bawahnya bulunya hanya sedikit. Bunga tunggal dan ada yang tersusun dalam rangkaian kecil. Bunga muncul dari ketiak daun. Warnanya putih bersih dan berbau wangi lembut. Namun, ada bunga yang berwarna semu merah jambu. Mahkota bunga berjumlah 5-6 helai. Putik dengan tangkai yang panjang atau pendek dan pada kepalanya terdapat tiga buah sirip. Jumlah benang sari 100-200 helai.

Buah teh berupa buah kotak berwarna hijau kecokelatan. Dalam satu buah berisi satu sampai enam biji, rata-rata tiga biji. Buah yang masak dan kering akan pecah dengan sendirinya serta bijinya ikut keluar. Bijinya berbentuk bulat atau gepeng pada satu sisinya, berwarna putih sewaktu masih muda dan berubah menjadi coklat setelah tua. Akar teh berupa akar tunggang dan mempunyai banyak akar cabang. Apabila akar tunggangnya putus, akar-akar cabang akan menggantikan fungsinya dengan arah tumbuh yang semula melintang (horisontal) menjadi ke bawah (vertikal). Akar bisa tumbuh besar dan cukup dalam.

Tanaman teh mengalami pertumbuhan tunas yang silih berganti. Tunas tumbuh pada ketiak atau bekas ketiak daun. Tunas yang tumbuh kemudian diikuti dengan pembentukan daun. Tunas baru pada teh memiliki daun kuncup yang menutupi titik tumbuh serta daunnya. Ada kalanya tunas beristirahat (fase istirahat)

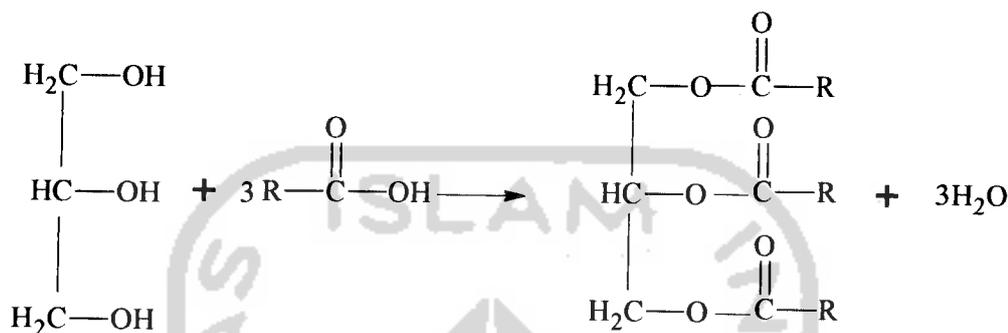
dan tidak menghasilkan daun. Fase ini ditandai dengan adanya kuncup inaktif yaitu daun yang masih muda dan baru membuka diujung tunas. Daun ini membungkus kuncup berukuran kecil dan agak bulat. Kuncup inaktif disebut juga kuncup burung, sehingga fase ini juga disebut stadium burung. Lamanya fase istirahat berbeda-beda tergantung jenis tehnya, pengaruh iklim, tanah, maupun serangan hama dan penyakit. Setelah itu, aktif kembali membentuk daun-daun baru. Nantinya, kuncup yang terbentuk juga akan beristirahat kembali. Demikian berlangsung terus secara bergantian.

3.2 Lemak dan Minyak

Lemak adalah trigliserida yang biasanya dihasilkan oleh hewan dan dikenal sebagai lemak hewani sedangkan minyak adalah trigliserida yang biasanya dihasilkan oleh tumbuhan dan dikenal sebagai minyak nabati. Lemak dapat dibedakan dari minyak dilihat dari wujudnya pada suhu kamar. Lemak pada suhu kamar berwujud padat sedangkan minyak pada suhu kamar berwujud cair (Fessenden, 1986).

Lemak dan minyak adalah trigliserida yang merupakan ester dari molekul gliserol dan asam-asam organik berantai lurus yang biasanya mempunyai atom karbon antara 16 sampai 24 atom permolekul. Lemak terdiri dari ester-ester yang tidak berbau dan tidak menguap, tetapi pada umumnya mempunyai sifat yang karakteristik dari trigliserida-trigliseridanya. Lemak tumbuhan yang masih kotor (*crude oil*) mengandung zat-zat lain dalam jumlah kecil, diantaranya fosfolipida, sterol, vitamin, dan zat warna (Eckey, 1954).

Dalam proses pembentukannya, trigliserida merupakan ester dari molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak yang membentuk satu molekul trigliserida dan tiga molekul air yang secara umum rumus bangun trigliserida dari proses pembentukannya ditulis dengan reaksi :



Asam lemak yang terkandung dalam trigliserida berpengaruh besar terhadap lemak dan merupakan penentu sifat fisika dan sifat kimia lemak. Lemak yang mengandung asam lemak dengan titik lebur rendah biasanya berwujud cair pada suhu kamar, dan lemak yang mengandung asam lemak bertitik lebur tinggi cenderung berwujud setengah padat atau padat pada suhu kamar (Markley, 1947)

Trigliserida yang terkandung dalam lemak atau minyak pada umumnya merupakan campuran berbagai macam asam lemak dan kecil kemungkinan yang sejenis. Minyak atau lemak mengandung berbagai macam trigliserida. Bila ketiga asam lemak yang terdapat pada molekul trigliserida merupakan asam-asam lemak yang sama disebut lemak sederhana (*simple tryglyceride*), sebagai contoh apabila R adalah $\text{C}_{17}\text{H}_{35}$ maka lemak tersebut dikenal sebagai tristearin, karena lemak tersebut mengandung tiga residu asam stearat. Sedangkan pada trigliserida campuran (*mixed tryglyceride*) terdapat lebih dari satu macam asam lemak (Swern, 1964).

3.2.1 Asam lemak

Asam lemak adalah asam karboksilat, RCOOH , yang mempunyai molekul tinggi dimana gugus R boleh jenuh, tidak jenuh, siklis atau mempunyai rantai bercabang. Asam dengan jenis R rantai terbuka dan tidak bercabang adalah asam yang paling sering dijumpai. Semua asam yang terdapat secara alami mempunyai jumlah atom genap. Berdasarkan ada tidaknya ikatan rangkap karbon-karbon dalam asam lemak, dikenal asam lemak tak jenuh dan asam lemak jenuh. Asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap antara atom-atom karbonnya, sedangkan asam lemak jenuh adalah asam lemak yang tidak mengandung ikatan rangkap pada ikatan antara atom-atom karbon penyusun asam lemak tersebut (Winarno, 1993). Derajat ketidakjenuhan lemak bergantung pada jumlah ikatan rangkap yang terdapat pada asam lemaknya, dan dapat diketahui dari besarnya angka iod. Makin banyak ikatan rangkap yang terkandung dalam suatu lemak maka angka iod akan semakin besar (Hilditch, 1949).

3.2.2 Minyak kedelai

Kedelai sudah dikenal sejak berabad-abad yang lalu dan berasal dari Asia Timur yaitu Cina, Mancuria, Korea, dan di Indonesia ditanam sejak tahun 1750. Kedelai (*Glycine max* L) adalah tanaman semusim yang biasa diusahakan pada musim kemarau, karena tidak memerlukan air dalam jumlah besar. Umumnya kedelai tumbuh di daerah dengan ketinggian 0 sampai 500 meter dari permukaan laut. Berdasarkan klasifikasi botani, kedelai termasuk famili Leguminosae, sub-famili Papilionidae, genus *Glycine*. Tanaman kedelai tumbuh tegak sedangkan kedelai liar tumbuh menjalar yaitu *Glycine gracilis*, sedangkan kedelai aslinya

tergolong dalam *Glycine usuriensis* dan kedelai yang dikembangkan sekarang adalah *Glycine max* L. Kedelai termasuk tanaman biji berganda, berakar tunggang. Pada akhir tumbuh bintil-bintil akar yang berisi *Rhizobium japonicum* yang dapat mengikat nitrogen dari udara. *Rhizobium japonicum* hidup bersimbiose dengan kedelai dan membantu sintesa protein kedelai.

Bunga kedelai disebut bunga kupu-kupu yang biasa bergerombol di bawah ketiak daun dengan jumlah bunga 13-15 buah, tetapi 75% dari bunga ini sering gugur. Polong yang terbentuk dapat berisi 1 sampai 5 biji kedelai, di Indonesia biasanya 2 biji perpolong. Penyerbukan yang terjadi sebelum polong terbentuk adalah penyerbukan sendiri.

Tanaman ini merupakan tanaman berumur pendek, dengan umur panen 90 hari, namun umur untuk panen ini juga dipengaruhi oleh varietas, iklim, dan tempat tumbuh. Perbedaan varietas ini biasanya menyebabkan perbedaan warna kedelai. Sebagian besar varietas yang ditanam untuk minyak adalah *straw-yellow*, hitam, coklat, hijau, dan *olive*.

Secara fisik setiap biji kedelai berbeda dalam hal warna, ukuran, dan bentuk biji dan juga terdapat perbedaan pada komposisi kimianya. Perbedaan sifat fisik dan kimia tersebut dipengaruhi oleh varietas dan kondisi dimana kedelai itu tumbuh.

Tabel 1. Komposisi kimia kacang kedelai atas dasar berat kering

Komposisi	Terendah (%)	Tertinggi (%)	Rata-rata (%)
Abu	3,67	5,90	4,99
Lemak kasar	14,95	22,90	19,63
Serat kasar	4,34	7,60	5,53
Protein	36,62	53,19	42,78
Gula	2,70	11,97	7,97
P	0,42	0,82	0,66
K	1,29	2,17	1,67
Ca	0,16	0,47	0,275

(Sumber : Bailey, A.E., 1950 dalam Ketaren, 1986)

Kedelai merupakan salah satu jenis palawija yang sangat dikenal, karena kandungan lemak dan protein yang cukup tinggi. Kandungan minyak dan komposisi asam lemak dalam kedelai dipengaruhi oleh varietas dan keadaan iklim tempat tumbuh. Lemak kasar terdiri dari trigliserida sebesar 90-95%, sedangkan sisanya ialah fosfatida, asam lemak bebas, sterol, dan tokoferol.

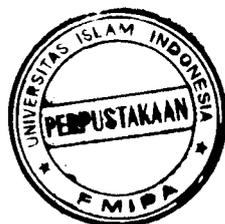
Kadar minyak kedelai relatif lebih rendah dibandingkan dengan jenis kacang-kacangan lainnya, tetapi lebih tinggi daripada kadar minyak sereal. Kadar protein kedelai yang tinggi menyebabkan kedelai lebih banyak digunakan sebagai sumber protein. Asam lemak dalam minyak kedelai sebagian besar terdiri dari asam lemak esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh dan dapat mencegah timbulnya *atherosclerosis* atau penyumbatan pembuluh darah.

Produksi kedelai di Indonesia menduduki urutan kedua setelah jagung. Disamping itu didalam lemak atau minyak kedelai terkandung beberapa fosfolipida penting yaitu lesitin, sepalin, dan lipositol. Kandungan minyak yang tinggi pada kedelai ini menyebabkan kedelai merupakan sumber minyak makan yang penting.

Tabel 2. Komposisi asam lemak minyak kedelai

Jenis Asam Lemak	Jumlah (%)
Asam Lemak Jenuh	
Asam miristat	< 0,5
Asam palmitat	7-10
Asam stearat	2-5
Asam arachidat	0,2-1
Asam laurat	0-0,1
Asam Lemak Tak Jenuh	
Asam oleat	11-60
Asam linoleat	15-64
Asam linolenat	1-12
Asam arachidonat	1,5

(Sumber : Bailey, A.E., 1950 dalam Ketaren, 1986)



Tabel 3. Standar mutu minyak kedelai

Sifat	Nilai
Bilangan asam	maksimum 3
Bilangan penyabunan	minimum 190
Bilangan iod	129-143
Bilangan yang tak tersabunkan (%)	maksimum 1,2
Bahan yang menguap (%)	maksimum 0,2
Indeks bias (20°C)	1,473-1,477
Bobot jenis (15,5°C)	0,924-0,928

(Sumber : Bailey, A.E., 1950 dalam Ketaren, 1986)

Berbagai penggunaan minyak kedelai dalam industri pangan diantaranya adalah sebagai minyak goreng, minyak salad, dan bahan untuk margarin. Kandungan lipida dari biji kedelai cukup tinggi, sekitar 20% maka kedelai lazim diambil minyaknya, yang kemudian dikenal sebagai minyak kedelai. Minyak kedelai dikenal sebagai minyak nabati, yang pada umumnya mengandung asam-asam lemak dengan derajat ketidakjenuhan lebih tinggi dibanding minyak hewani. Adanya zat antioksidan yang dikandung dalam minyak nabati, menyebabkan minyak jenis ini lebih tahan terhadap reaksi oksidasi dibanding dengan minyak hewani. Pada umumnya makin tinggi ketidakjenuhan minyak, makin tinggi pula zat antioksidan alam yang dikandungnya. Zat antioksidan alam yang biasanya terdapat dalam minyak yang bersumber dari bahan nabati adalah tokoferol.

3.3 Kerusakan Lemak dan Minyak

Bahan makanan berlemak merupakan medium yang baik bagi pertumbuhan beberapa jenis jamur dan bakteri. Kerusakan lemak didalam bahan pangan dapat terjadi slama proses pengolahan, misalnya pada proses penggorengan dan selama penyimpanan. Kerusakan lemak dan minyak ini menyebabkan bahan pangan

berlemak mempunyai bau dan rasa yang tidak enak (tengik), sehingga dapat menurunkan mutu dan nilai gizi bahan pangan berlemak.

Ketengikan (*rancidity*) diartikan sebagai kerusakan atau perubahan bau dan flavor dalam bahan pangan berlemak. Penyebab ketengikan dalam bahan pangan berlemak antara lain karena ketengikan oleh oksidasi (*oxidative rancidity*), ketengikan oleh enzim (*enzymatic rancidity*), dan ketengikan oleh proses hidrolisa (*hidrolitic rancidity*) (Ketaren, 1986).

Proses oksidasi dapat dipicu oleh adanya radiasi (cahaya, panas), udara, bahan pengoksidasi, enzim, dan kontaminasi logam (Eckey, 1954). Bentuk kerusakan, terutama ketengikan yang paling penting disebabkan oleh aksi oksigen udara terhadap lemak atau minyak (ketengikan oleh oksidasi). Dalam bahan pangan berlemak, konstituen yang mudah mengalami oksidasi adalah asam lemak tidak jenuh. Proses oksidasi dapat terjadi pada suhu kamar, dan selama proses pengolahan menggunakan suhu tinggi. Kecepatan oksidasi bahan pangan berlemak yang dibiarkan di udara akan bertambah dengan kenaikan suhu dan berkurang dengan penurunan suhu. Hasil oksidasi bahan pangan berlemak tidak hanya mengakibatkan rasa dan bau tidak enak, tetapi juga dapat menurunkan nilai gizi, karena kerusakan vitamin dan asam lemak esensial dalam bahan pangan berlemak.

3.4 Autooksidasi

Proses autooksidasi pada lemak atau minyak pada prinsipnya merupakan proses pemecahan yang terjadi disekitar ikatan rangkap dalam molekul gliserida penyusun lemak dan minyak. Semakin banyak ikatan rangkapnya (makin tak jenuh) maka semakin peka terhadap pemecahan oksidatif. Proses oksidasi akan berlangsung

bila terjadi kontak antara lemak dan oksigen (Ketaren, 1986). Terjadinya reaksi oksidasi ini akan mengakibatkan bau tengik pada minyak dan lemak. Oksidasi biasanya dimulai dengan pembentukan peroksida dan hidroperoksida. Tingkat selanjutnya ialah terurainya asam-asam lemak disertai dengan konversi hidroperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas.

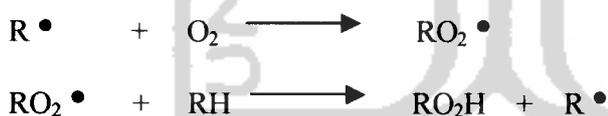
Oksidasi lemak berlangsung dalam serangkaian tahap-tahap reaksi yang disebut mekanisme radikal bebas. Tahap permulaan disebut inisiasi kemudian diikuti propagasi, dan terminasi (Tranggono dkk., 1990). Mekanisme pembentukan radikal bebas dalam oksidasi lemak dapat ditulis sebagai berikut :

Inisiasi :



RH merupakan asam lemak tak jenuh yang punya H labil karena terikat pada atom C yang terdekat dengan ikatan rangkap. R adalah radikal bebas yang terbentuk dengan terpisahnya H labil.

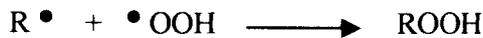
Propagasi :



$\text{R} \cdot$ sangat peka terhadap serangan oksigen dari udara untuk membentuk $\text{ROO} \cdot$ (radikal peroksida) yang tidak stabil. Hal inilah yang menyebabkan reaksi oksidasi ini disebut mekanisme radikal bebas. Radikal bebas itu sendiri berperan sebagai inisiator dan promotor (katalisator) yang kuat pada reaksi oksidasi lebih lanjut, sehingga pemecahan oksidatif lemak dan minyak menjadi berlangsung terus-menerus dengan kekuatan sendiri (autokatalitik).

Reaksi antara ROO^\bullet dan lemak akan menghasilkan ROOH dan R^\bullet . Radikal bebas ini kemudian dapat bereaksi dengan oksigen sehingga tahap propagasi tersebut merupakan reaksi berantai, sedangkan hidroperoksida dapat pecah menjadi molekul organik lain yang lebih kecil seperti aldehid, keton dan asam.

Terminasi :



Bila dua radikal bergabung maka terjadi terminasi. Inisiasi perlu dilakukan lagi bila tidak ada lagi radikal yang tersedia untuk melakukan oksidasi lebih lanjut. Peroksida aktif yang dihasilkan selama proses oksidasi dapat juga bertindak sebagai bahan pengoksidasi yang lebih kuat dari udara. Keadaan ini dapat menimbulkan perubahan yang tidak diinginkan terhadap komponen non lemak misalnya pigmen-pigmen karotenoid yang larut dalam lemak, sehingga lemak yang rusak dapat mengalami perubahan warna menjadi lebih jenuh dan kental.

3.5 Antioksidan Polifenol Daun Teh

Sejak Perang Dunia pertama telah dikenal kurang lebih sebanyak 500 macam persenyawaan kimia yang mempunyai aktivitas antioksidan, yaitu dapat menghambat atau mencegah kerusakan bahan pangan berlemak akibat proses oksidasi. Pada pertama kali, bahan kimia tersebut ditambahkan untuk menghambat kerusakan oleh oksidasi pada karet, gasoline, plastik atau bahan non pangan lainnya, dan belum digunakan dalam bahan pangan karena pada saat itu belum diketahui sampai berapa jauh pengaruh racun yang mungkin dapat ditimbulkannya. Pada saat sekarang,

antioksidan tersebut telah banyak digunakan atau ditambahkan kedalam bahan pangan berlemak (Ketaren, 1986).

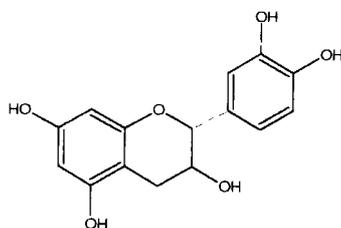
Pada umumnya antioksidan mempunyai inti struktur yang sama, yaitu mengandung cincin aromatis disertai gugus hidroksi dan atau amino (Schultz, 1962). Adanya gugus hidroksi (-OH) dan amino (-NH₂) yang terikat pada cincin aromatis memegang peranan penting dalam aktivitas antioksidan. Potensi antioksidan tersebut diperbesar oleh adanya substitusi gugus lain yang terikat pada cincin aromatis (Ketaren, 1986). Penggolongan antioksidan adalah sebagai berikut :

1. Golongan fenol, antioksidan yang termasuk golongan ini biasanya mempunyai intensitas warna yang rendah atau kadang-kadang tidak berwarna dan banyak digunakan karena tidak beracun. Antioksidan golongan fenol meliputi sebagian besar antioksidan yang dihasilkan oleh alam dan sejumlah kecil antioksidan sintetis, serta banyak digunakan dalam bahan pangan berlemak.
2. Golongan amin, antioksidan yang mengandung gugus amino atau diamino yang terikat pada cincin benzena biasanya mempunyai potensi tinggi sebagai antioksidan, namun beracun dan biasanya menghasilkan warna yang intensif jika dioksidasi atau bereaksi dengan ion logam, dan umumnya stabil terhadap panas. Antioksidan yang termasuk golongan amin banyak digunakan dalam industri non pangan, terutama industri karet.
3. Golongan amino fenol, golongan antioksidan ini biasanya mengandung gugusan fenol dan amino yang merupakan gugus fungsional penyebab aktivitas antioksidan. Golongan persenyawaan amino fenol ini banyak

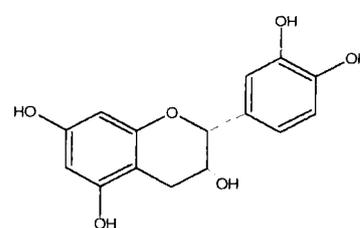
digunakan dalam industri petroleum, untuk mencegah terbentuknya gum dalam gasoline.

Sebagian besar antioksidan alam termasuk dalam golongan fenol. Antioksidan yang paling efektif dan banyak digunakan dalam bahan pangan adalah senyawa polifenol. Antioksidan ini mempunyai intensitas warna yang rendah dan tidak beracun sehingga banyak digunakan pada bahan pangan. Dari struktur beberapa komponen polifenol dapat diketahui bahwa polifenol daun teh mengandung cincin aromatis disertai gugus hidroksi sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan alam.

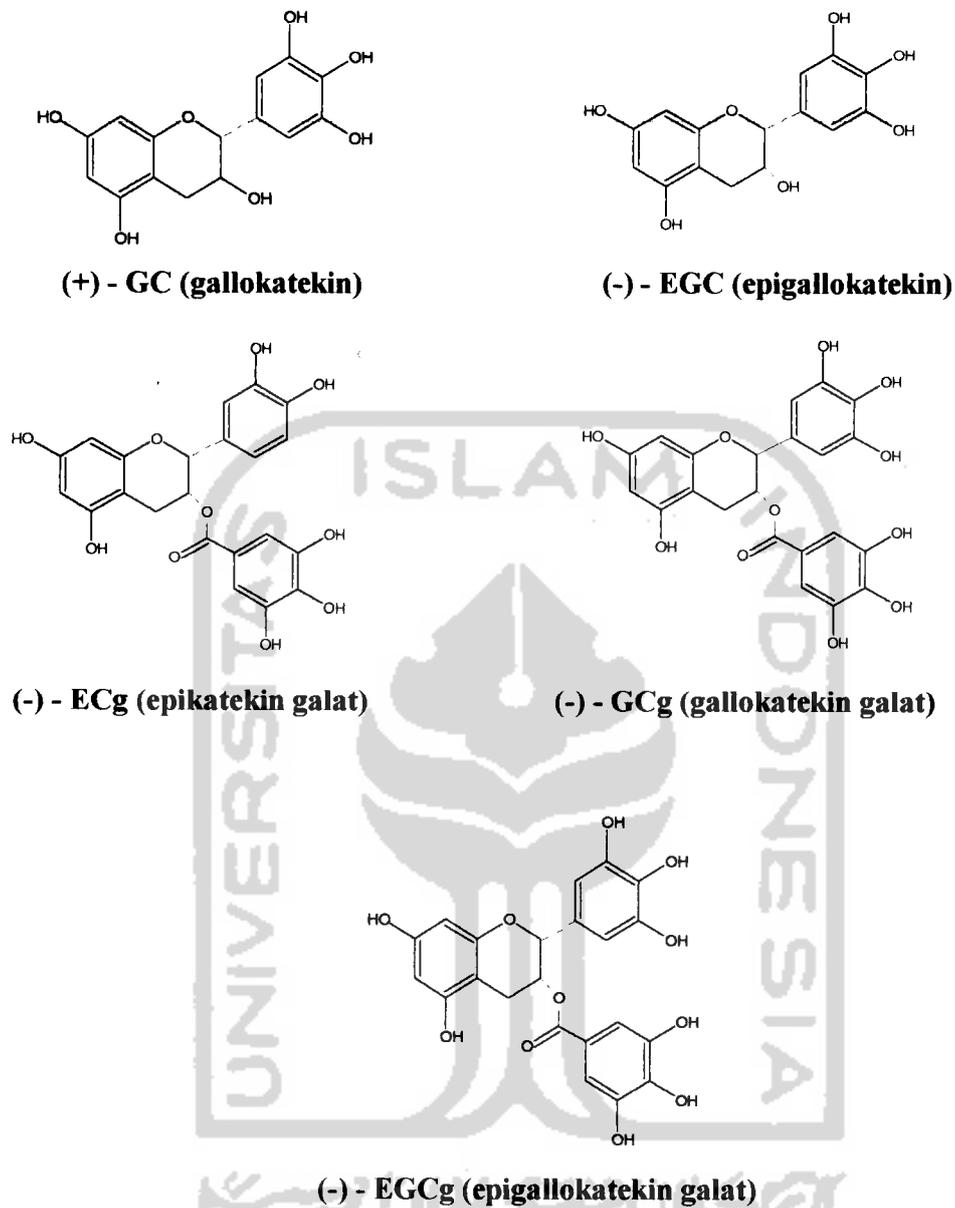
Daun teh mengandung beberapa zat kimia yang dapat digolongkan menjadi empat. Keempat golongan itu adalah : substansi fenol (katekin, flavanol), bukan fenol (karbohidrat, pektin, alkaloid, protein, asam amino, klorofil, asam organik), senyawa aromatis, dan enzim. Satu dari komponen yang terdapat dalam daun teh adalah polifenol yang dapat disari dengan air panas atau diekstrak dengan etil asetat dari larutan berair. Polifenol adalah komponen daun teh yang memberikan rasa pahit dan aroma segar. Kandungan polifenol dari teh yang diekstrak dengan etil asetat sebagian besar tersusun atas (+) - C (katekin), (+) - EC (epikatekin), (+) - GC (gallokatekin), (-) - EGC (epigallokatekin), (-) - ECg (epikatekin galat), (-) - GCg (gallokatekin galat), dan (-) - EGCg (epigallokatekin galat).



(+) - C (katekin)



(+) - EC (epikatekin)



Gambar 2. Beberapa komponen polifenol daun teh (Sumber : Yamamoto, 1997)

3.6 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan berfungsi sebagai bahan penghambat terjadinya reaksi berantai asam lemak tak jenuh dengan oksigen udara. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari

bahan pangan berlemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 macam mekanisme reaksi, yaitu :

1. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
2. Pelepasan elektron dari antioksidan
3. Adisi lemak kedalam cincin aromatik pada antioksidan
4. Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

Peroksida radikal dan oksigen bebas radikal selama tahap propagasi dan tahap yang lain pada reaksi berantai autooksidasi asam lemak tak jenuh akan bereaksi dengan antioksidan sebagai berikut :



Keterangan :

$\text{RO}_2 \bullet$ = peroksida radikal

$\text{RO} \bullet$ = oksigen bebas radikal

AH = antioksidan

$\text{A} \bullet$ = antioksidan radikal

3.7 Uji Asam Tiobarbiturat (TBA)

Uji ini berdasarkan atas terbentuknya pigmen berwarna merah sebagai hasil reaksi kondensasi antara 2 molekul TBA dengan 1 molekul malonaldehid. Lemak

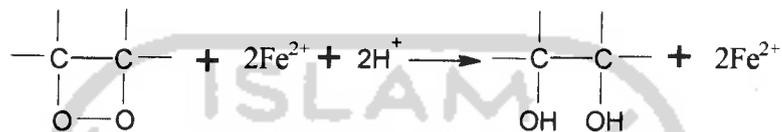
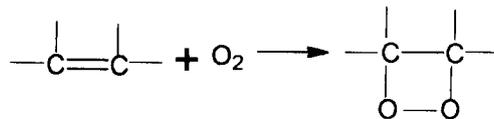
yang rusak mengandung aldehid dan kebanyakan sebagai malonaldehid. Malonaldehid kemudian direaksikan dengan asam tiobarbiturat sehingga terbentuk kompleks berwarna merah. Intensitas warna sesuai dengan jumlah malonaldehid atau sebanding dengan ketengikan (Meyer, 1960). Intensitas warna merah dapat ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Patton, 1974). Uji TBA ini merupakan uji yang spesifik untuk hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh, dan baik diterapkan untuk uji terhadap bahan pangan berlemak yang mengandung asam lemak dengan derajat ketidakjenuhan lebih tinggi.

3.8 Uji Tiosianat

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat adalah suatu mekanisme pengukuran aktivitas antioksidan dalam menghambat terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif. Proses terbentuknya radikal bebas ini disebabkan oleh oksidasi asam lemak pada kondisi buffer yang diinkubasi pada suhu tertentu. Pengukuran bilangan peroksida sampel dilakukan pada periode tertentu menggunakan besi klorida (FeCl_2) dan amonium tiosianat (NH_4SCN). Senyawa peroksida dinyatakan sebagai senyawa yang dapat mengoksidasi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} . Ion feri akan menghasilkan warna merah bila bereaksi dengan tiosianat, sehingga kompleks yang terbentuk dapat dinyatakan dalam absorbansi pada panjang gelombang 500 nm (Andarwulan dkk, 1996).

Dengan terhambatnya oksidasi maka peroksida yang terbentuk menjadi lebih sedikit, oleh karenanya Fe^{3+} yang bereaksi dengan tiosianat lebih sedikit pula, dengan begitu absorbansi lebih rendah (Mulyani dkk, 1998)

Menurut Hadisusilo dkk (1999), kemampuan antioksidan pada metode tiosianat dilihat dari rendahnya nilai absorbansi yang terbentuk dibandingkan dengan pembanding. Makin rendah absorbansi berarti makin sedikit peroksida yang dihasilkan, hal ini berdasarkan reaksi :



3.9 Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida adalah nilai terpenting untuk menentukan derajat kerusakan pada minyak atau lemak. Bilangan peroksida dinyatakan dengan jumlah mL natrium tiosulfat yang dibutuhkan untuk mengikat iod bebas dalam setiap gram bahan minyak atau lemak yang diselidiki. Asam lemak tidak jenuh dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya sehingga membentuk peroksida. Peroksida ini dapat ditentukan dengan dengan metode iodometri (Jacobs, 1973).

Cara yang sering digunakan untuk menentukan bilangan peroksida, berdasarkan pada reaksi antara alkali iodida dalam larutan asam dengan ikatan peroksida. Iod yang dibebaskan pada reaksi ini kemudian dititrasi dengan natrium tiosulfat (Ketaren, 1986). Pengukuran bilangan peroksida menunjukkan konsentrasi peroksida sebagai ukuran besarnya oksidasi. Lemak yang teroksidasi akan mempunyai bilangan peroksida tinggi yang kemudian menurun disertai peruraian

hasil oksidasi. Bilangan peroksidasi ditentukan berdasarkan jumlah iodine yang dibebaskan setelah lemak atau minyak ditambahkan KI (Winarno, 1991).

Bilangan peroksida dapat ditentukan pula dengan cara pengukuran absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran absorbansi sampel melalui reaksi pembentukan kompleks iod-amilum pada panjang gelombang maksimum. Dengan menggunakan kurva baku absorbansi kompleks iod-amilum versus konsentrasi iod yang dibebaskan oleh peroksida, maka dapat diperoleh nilai bilangan peroksida yang berbanding lurus dengan konsentrasi iod yang dibebaskan oleh peroksida. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi absorbansinya maka bilangan peroksida semakin tinggi dan tingkat oksidasi sampel semakin tinggi pula.

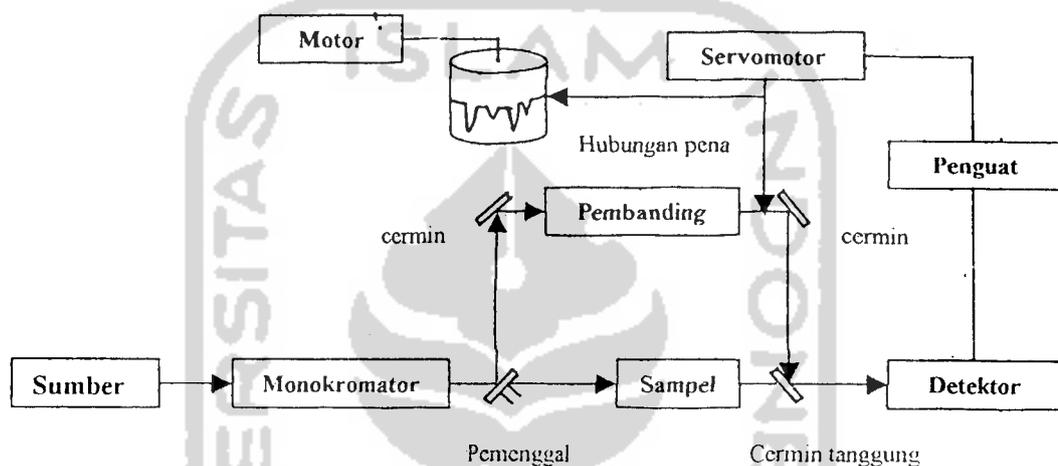
3.10 Spektrofotometri UV-Vis

Spektroskopi adalah suatu metode analisis berdasarkan interaksi antara radiasi gelombang elektromagnetik dengan molekul sampel. Spektrum elektromagnetik dikelompokkan berdasarkan pada sifat dan panjang gelombangnya. Spektrum sinar UV terletak pada panjang gelombang 100-380 nm. Sedangkan spektrum sinar tampak terletak antara 380-780 nm. Jika suatu molekul dikenai radiasi UV-Vis maka energi yang disumbangkan oleh foton-foton memungkinkan elektron mengatasi kekangan inti dan pindah ke orbital baru yang lebih tinggi energinya (Underwood, 1996).

Menurut Sastrohamidjojo (1991), istilah yang sering digunakan dalam spektrum elektronik adalah kromofor. Kromofor digunakan untuk menyatakan gugus jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-Vis. Setiap molekul akan menyerap energi yang berbeda-beda sehingga spektrum absorpsinya

dapat digunakan untuk analisa kualitatif. Sedangkan jumlah radiasi yang diabsorpsi sebanding dengan jumlah molekul sehingga spektra absorpsinya dapat digunakan untuk analisa kuantitatif.

Instrumen spektrofotometer UV-Vis terdiri dari beberapa bagian penting, yaitu sumber energi radiasi, monokromator, tempat cuplikan, dan detektor. Instrumen spektrofotometer dapat ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Bagan instrumen spektrofotometer UV-Vis

(Sumber : Day dan Underwood, 1986)

Sumber radiasi ultra violet yang banyak digunakan adalah lampu hidrogen atau lampu deuterium. Lampu terdiri dari sepasang elektroda yang terselubung dalam tabung gelas yang berisi gas hidrogen atau deuterium pada tekanan rendah. Jika dikenai tegangan tinggi, akan dihasilkan elektron-elektron yang mengeksitasikan elektron-elektron lain dalam molekul gas ke tingkat energi yang lebih tinggi. Jika elektron kembali ke tingkat dasar akan melepaskan radiasi kontinyu pada daerah 180-350 nm. Sedangkan sumber radiasi tampak berupa lampu filamen tungsten.

Radiasi kontinyu yang dihasilkan dalam kisaran panjang gelombang yang luas. Radiasi harus diubah menjadi radiasi monokromatik dengan monokromator. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi radiasi tunggal (monokromatik). Monokromator hanya meneruskan radiasi pada panjang gelombang tertentu dan menyerap radiasi pada panjang gelombang lain.

Detektor dalam spektrofotometer UV-Vis harus mempunyai kepekaan dan respon yang linier terhadap daya radiasi, waktu respon cepat, dapat digandakan, dan mempunyai kestabilan yang tinggi. Detektor yang banyak digunakan adalah detektor fotolistrik. Detektor berupa tabung hampa udara terdapat sepasang elektroda, dengan jendela tembus cahaya. Sinyal dari detektor diperkuat oleh amplifier dan diteruskan ke pencatat.

3.11 Ekstraksi

Salah satu metode ekstraksi zat padat adalah menggunakan seperangkat sokhlet. Prosedur klasik untuk mendapatkan kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (daun, akar, biji) ialah dengan mengekstraksi sinambung serbuk bahan dengan alat sokhlet menggunakan pelarut secara berganti-ganti (Harborne, 1987). Ekstraksi sokhlet merupakan ekstraksi yang berlangsung secara berulang-ulang dan teratur sehingga dapat diharapkan hasil yang maksimal.

Prinsip pemisahannya adalah dengan membiarkan komponen yang akan dipisahkan bercampur sementara waktu dengan pelarut melalui proses yang berulang-ulang dan teratur. Alat yang digunakan berupa seperangkat sokhlet yang terdiri dari pemanas, labu alas bulat, sokhlet, dan pendingin bola (Meloan, 1999).

Serbuk yang diekstraksi diletakkan pada kelongsong yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan ditempatkan dibagian dalam alat sokhlet. Kemudian dipasang labu alas bulat yang sesuai ukurannya dan diisi pelarut. Bagian atas diisi pendingin balik. Pelarut dididihkan, uap akan keluar keatas melalui pipa menuju kependingin dan akan dikondensasikan. Uap yang dikondensasikan akan turun sebagai tetesan pelarut dan jatuh kekelongsong, perlahan-lahan memenuhi alat sokhlet serta akan melarutkan analit dalam sampel. Setelah sokhlet penuh dengan pelarut maka pelarut akan turun mengalir ke labu sambil membawa analit, dengan demikian zat telah mengalami satu sirkulasi. Proses ini akan berlangsung terus-menerus secara otomatis sampai ekstraksi sempurna. Selanjutnya bila akan mengisolasi hasil ekstraksi dapat diambil dari larutan di labu.

Kekurangan metode ini adalah bahwa temperatur di labu berada dibawah temperatur didihnya sehingga temperatur pelarut untuk ekstraksi rendah dan ekstraksi berlangsung relatif lama. Hal ini akan nampak khususnya jika kelarutan zat meningkat dengan kenaikan temperatur (Vogel, 1985). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sokhlet harus memiliki syarat-syarat sebagai berikut :

1. Tidak bereaksi dengan komponen yang akan diekstrak
2. Selektif, hanya melarutkan zat-zat yang diinginkan
3. Titik didih rendah sehingga mudah diuapkan
4. Secara ekonomis, pelarut murah harganya.

3.12 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian diatas, maka diperkirakan dalam ekstrak etil asetat daun teh mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan untuk mencegah kerusakan akibat proses oksidasi pada minyak kedelai.



BAB IV
METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

1. Satu set alat sokhlet
2. Evaporator Buchii
3. Alat gelas
4. Pipet volume
5. Pro pipet
6. Pemanas air
7. Alat penggiling
8. Termometer
9. Oven
10. Spektrofotometer UV-Vis merk Hitachi U-2010

4.1.2 Bahan

1. Daun teh (*Camelia sinensis*)
2. Minyak kedelai (Soybean Oil)
3. Butil Hidroksi Anisol (BHA)
4. Etanol 75% (v/v)
5. Buffer fosfat pH 7,00
6. NH_4SCN 30% (b/v)

7. $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,02 M
8. HCL 3,5%
9. CCl_3COOH 20% (v/v)
10. Asam tiobarbiturat (TBA) 0,67% (b/v)
11. Etil asetat
12. n-heksana
13. Asam asetat glasial
14. Kloroform
15. KI jenuh
16. I_2
17. KI
18. Larutan amilum 1%.
19. Kertas saring
20. Akuades

4.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun teh dan minyak kedelai. Daun teh diperoleh dari perkebunan teh kabupaten Wonosobo, Jawa Tengah. Daun yang digunakan adalah daun teh segar yang diambil dengan metode acak sederhana bagian pucuknya yang terdiri dari peko (kuncup), daun pertama, daun kedua, dan daun ketiga. Minyak kedelai yang digunakan adalah minyak kedelai yang dibuat sendiri dengan menggunakan kedelai yang dibeli di pasar Pakem, Sleman, Jogjakarta.

4.3 Cara Kerja

4.3.1 Pembuatan minyak kedelai

Minyak kedelai dibuat dengan cara kedelai bersih dihancurkan dengan blender sehingga diperoleh butiran halus. Kedelai halus tersebut kemudian dikukus pada suhu 80°C selama 10 menit. Kedelai yang telah dikukus kemudian dipress secara mekanis pada tekanan 400-450 kg/cm² selama 20-25 menit. Hasil minyak kedelai disaring dan disimpan dalam pendingin suhu 5°C sebelum digunakan pada penelitian.

4.3.2 Penyediaan serbuk daun teh

Daun teh dipilih yang kondisinya masih baik dan segar. Daun teh dicuci dan ditiriskan untuk mengurangi kadar airnya. Kemudian daun teh diblender sehingga menjadi serbuk.

4.3.3 Ekstraksi daun teh

1. Tiga puluh gram serbuk daun teh dibungkus dengan menggunakan kertas saring. Kemudian dimasukkan kedalam alat sokhlet.
2. Ekstraksi dilakukan kurang lebih selama 6 jam dengan menggunakan pelarut n-heksana untuk menghilangkan senyawa-senyawa non polar.
3. Ekstraksi dilakukan lagi dengan menggunakan pelarut etil asetat selama kurang lebih 6 jam dan ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator buchii.

dengan suhu kamar dan dipipet sebanyak 2 mL sampel kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan kedalamnya 2 mL CCl_3COOH 20% (v/v) dan 1 mL asam tiobarbiturat (TBA) 0,67% (b/v). Kemudian dipanaskan dengan penangas air selama 10 menit, setelah itu didinginkan sampai suhu kamar. Pengukuran absorbansinya dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

4.3.5 Bilangan peroksida

4.3.5.1 Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan kompleks iod-amilum dilakukan dengan cara :

1. Dibuat larutan iod 0,005 M dengan mereaksikan iod dan KI dalam akuades.
2. Diambil 1 mL larutan iod 0,005 M dan dimasukkan kedalam labu takar 10 mL, diencerkan sampai tanda dengan akuades kemudian ditambah 0,5 mL amilum 1%.
3. Diukur panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum pada panjang gelombang antara 400 – 700 nm.

4.3.5.2 Pembuatan kurva baku kompleks iod-amilum

1. Dibuat variasi volume larutan iod yang ditambahkan dalam pembuatan kompleks iod-amilum yaitu : 0,5 mL; 0,6 mL; 0,7 mL; 0,8 mL; 0,9 mL.
2. Masing-masing dimasukkan kedalam labu takar 10 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda.
3. Ditambahkan masing-masing kedalamnya 0,5 mL amilum 1%.

4. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4.3.5.3 Penentuan absorbansi sampel

1. Dibuat 3 buah sampel yang akan diukur absorbansinya, yang terdiri atas masing-masing 5 g minyak, 5 g minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat daun teh, dan 5 g minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHA kemudian dipanaskan dalam oven selama 24 jam pada suhu 40°C.
2. Masing-masing sampel dikeluarkan dari oven dan dibiarkan suhu sama dengan suhu kamar kemudian dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambahkan kedalamnya asam asetat dan kloroform sebanyak 30 mL dengan perbandingan 3 : 2.
3. Didiamkan 5 menit dan ditambahkan 30 mL akuades.
4. Diambil 10 mL lapisan bagian atas dan ditambah 0,5 mL amilum 1%.
5. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif dalam daun teh yang dapat digunakan sebagai antioksidan pada minyak, dimana dari berbagai literatur disebutkan bahwa senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan dalam daun teh adalah senyawa polifenol, khususnya katekin dan turunannya. Metode yang digunakan adalah ekstraksi sokhletasi dengan pelarut etil asetat. Metode ini dipilih karena senyawa polifenol, khususnya katekin dan turunannya yang merupakan penyusun terbesar dari daun teh merupakan golongan flavonoid semi polar sehingga cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti etil asetat, eter, kloroform, dan lain-lain.

Hasil ekstraksi yang diperoleh selanjutnya diujikan aktivitas antioksidannya pada minyak kedelai. Pada uji aktivitas antioksidan ini menggunakan kontrol antioksidan sintetis yaitu Butylated Hydroxy Anisole (BHA) dan minyak kedelai tanpa penambahan antioksidan sebagai pembanding dengan menggunakan metode asam tiobarbiturat, metode tiosianat, dan penentuan bilangan peroksida.

5.1 Ekstraksi Daun Teh

Daun teh yang digunakan adalah daun teh dalam kondisi yang baik. Daun teh diperoleh dengan pemetikan pada perkebunan teh kabupaten Wonosobo, Jawa Tengah. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode acak sederhana. Daun teh dipilih yang kondisinya baik, kemudian dicuci hingga bersih untuk menghindari

adanya jamur dan kotoran lain yang menempel. Daun teh ditiriskan untuk mengurangi kadar airnya. Daun teh dipilih bagian kuncup peko, daun pertama, daun kedua, daun ketiga, dan tangkai atas. Bagian ini dipilih karena mempunyai kandungan katekin yang paling banyak sehingga diharapkan senyawa aktif antioksidan dapat terambil maksimal. Daun teh dihaluskan untuk mendapatkan serbuk daun teh. Hal ini dimaksudkan untuk memperbesar luas permukaan daun teh sehingga interaksi antara pelarut dengan senyawa yang akan diambil lebih efektif, karena jika ukurannya terlalu besar akan mengakibatkan interaksi antara senyawa yang akan diambil lebih kecil.

Senyawa yang akan diambil dari daun teh dipisahkan dengan metode ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan berdasarkan pada metode ekstraksi sokhletasi. Ekstraksi dilakukan dengan cara serbuk daun teh dibungkus rapat dengan kertas saring, kemudian dimasukkan kedalam alat sokhlet dan alat sokhlet disambungkan dengan kondensor (pendingin balik) pada bagian atasnya serta labu alas bulat pada bagian bawahnya untuk menampung ekstrak. Sebelum pelarut etil asetat dimasukkan, kedalam labu alas bulat diberi 3 buah batu didih yang berfungsi untuk meratakan panas dan mencegah terjadinya *bumping* karena ekstraksi dilakukan kurang lebih selama 6 jam.

Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan pelarut dengan penangas air untuk menjaga agar tidak terjadi kelebihan temperatur pada saat pemanasan. Ekstraksi dilakukan dengan memisahkan senyawa-senyawa non polar seperti lemak, pigmen, klorofil, dan senyawa non polar lain yang ada di dalam daun teh terlebih dahulu menggunakan pelarut n-heksana karena pelarut ini termasuk pelarut non polar, sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar yang terdapat di dalamnya.

Kemudian ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etil asetat untuk mendapatkan senyawa aktif antioksidan yang diinginkan. Pelarut n-heksana yang digunakan untuk memisahkan senyawa nonpolar sebanyak 125 mL. Pada sirkulasi pertama pelarut n-heksana berwarna kuning, sedangkan pada sirkulasi selanjutnya warna pelarut n-heksana dalam sokhlet semakin berkurang sampai akhirnya menjadi tidak berwarna. Ekstraksi berlangsung selama 6 jam. Agar pemisahan lebih optimal, residu didiamkan selama 1 malam dalam keadaan terendam n-heksana. Filtrat n-heksana yang diperoleh berwarna kuning. Selanjutnya residu diekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 125 mL sampai etil asetat yang berada dalam sokhlet menjadi tidak berwarna. Proses ekstraksi berlangsung selama 6 jam. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 75 mL kemudian dipekatkan dengan evaporator buchii untuk menguapkan pelarut etil asetat dan mendapatkan hasil. Data hasil akhir ekstraksi yang telah dilakukan diperoleh :

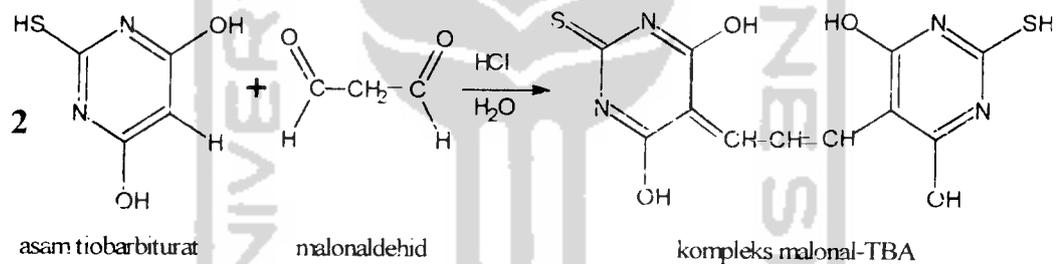
Bentuk : padat
Warna : coklat kehitaman
Berat : 1,84 g

5.2 Uji Aktivitas Antioksidan

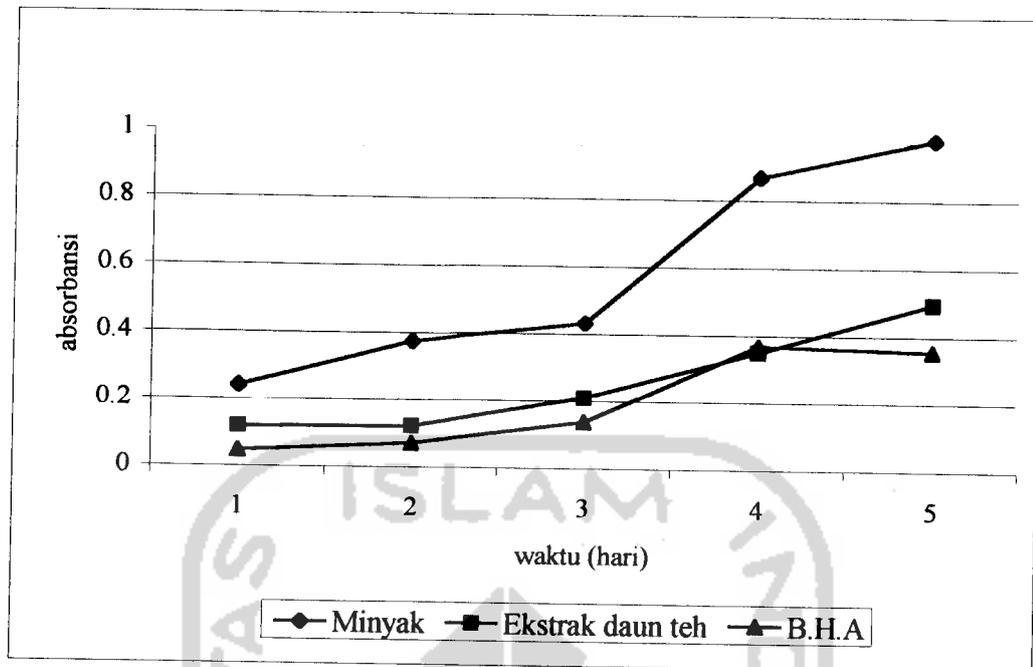
Metode pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode asam tiobarbiturat, metode tiosianat, dan penentuan bilangan peroksida terhadap minyak kedelai 0,25% (v/v). Antioksidan sintetis yang digunakan sebagai kontrol adalah BHA dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi ekstrak daun teh yaitu 0,05% (b/v) dan sebagai pembanding digunakan minyak kedelai tanpa penambahan antioksidan.

5.2.1 Metode asam tiobarbiturat (TBA)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode asam tiobarbiturat ini dilakukan melalui pengukuran absorbansi produk oksidasi minyak kedelai pada panjang gelombang 532 nm. Uji ini berdasarkan atas terbentuknya pigmen berwarna merah sebagai hasil reaksi kondensasi antara 2 molekul TBA dengan 1 molekul malonaldehid. Lemak yang rusak mengandung aldehid dan kebanyakan sebagai malonaldehid. Malonaldehid kemudian direaksikan dengan asam tiobarbiturat sehingga terbentuk kompleks berwarna merah. Intensitas warna sesuai dengan jumlah malonaldehid atau sebanding dengan ketengikan. Intensitas warna merah ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Dengan reaksi sebagai berikut :



Proses oksidasi minyak kedelai yang terjadi akan mengakibatkan terbentuknya senyawa hidroperoksida sebagai produk primer yang akan terdegradasi membentuk produk sekunder diantaranya berupa malonaldehid. Semakin tinggi tingkat oksidasi yang terjadi maka semakin tinggi pula absorbansi yang terukur. Uji TBA ini merupakan uji yang spesifik untuk hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh, dan baik diterapkan untuk uji terhadap bahan pangan berlemak yang mengandung asam lemak dengan derajat ketidakjenuhan lebih tinggi. Hasil pengukuran absorbansi dengan metode asam tiobarbiturat disajikan dalam gambar 4.



Gambar 4. Kurva absorbansi versus waktu metode asam tiobarbiturat

Dari gambar 4, terlihat bahwa minyak kedelai tanpa penambahan antioksidan, mempunyai absorbansi tertinggi dibandingkan dengan sampel minyak yang ditambahkan ekstrak daun teh dan sampel kontrol minyak yang ditambahkan antioksidan sintetis BHA. Hal ini menunjukkan bahwa proses oksidasi yang terjadi pada sampel minyak tanpa penambahan antioksidan lebih besar dibanding yang lainnya. Hal ini menunjukkan pula bahwa ekstrak daun teh mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Sampel minyak dengan penambahan ekstrak daun teh menunjukkan pembentukan peroksida yang relatif lebih sedikit dibandingkan dengan minyak kedelai tanpa penambahan apapun. Minyak kedelai digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun teh karena minyak kedelai memiliki kandungan asam lemak tak jenuh yang besar dimana asam lemak tak jenuh dalam minyak kedelai ini mengandung dua atau lebih ikatan rangkap yang diharapkan memberikan hasil yang lebih baik bila dibandingkan dengan penggunaan

asam lemak jenuh yang tidak memiliki ikatan rangkap maupun asam lemak yang hanya memiliki satu ikatan rangkap. Apabila digunakan asam lemak dengan satu ikatan rangkap maka kerusakan yang terjadi kurang bisa teramati karena kecilnya tingkat oksidasi yang terjadi. Akibatnya aktivitas antioksidan yang diuji kurang bisa menunjukkan hasil yang signifikan. Tingkat oksidasi akan semakin meningkat dengan semakin bertambahnya ikatan rangkap, karena asam lemak tak jenuh dengan ikatan rangkap lebih dari dua akan lebih mudah teroksidasi dibanding asam lemak yang hanya punya satu ikatan rangkap pada kondisi yang sama.

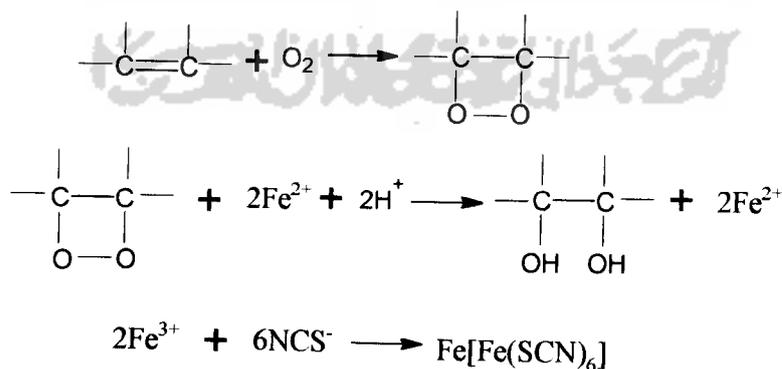
Pada penelitian ini digunakan antioksidan sintetis BHA, hal ini tidak dimaksudkan untuk membandingkan kekuatan antioksidan antara senyawa dalam ekstrak daun teh dengan antioksidan sintetis BHA secara kuantitatif. Penggunaan ini dimaksudkan untuk menguji secara kualitatif kekuatan antioksidan dari ekstrak daun teh dan kontrol tersebut telah memperlihatkan perlakuan uji aktivitas antioksidan yang tepat dalam penelitian ini.

5.2.2 Metode tiosianat

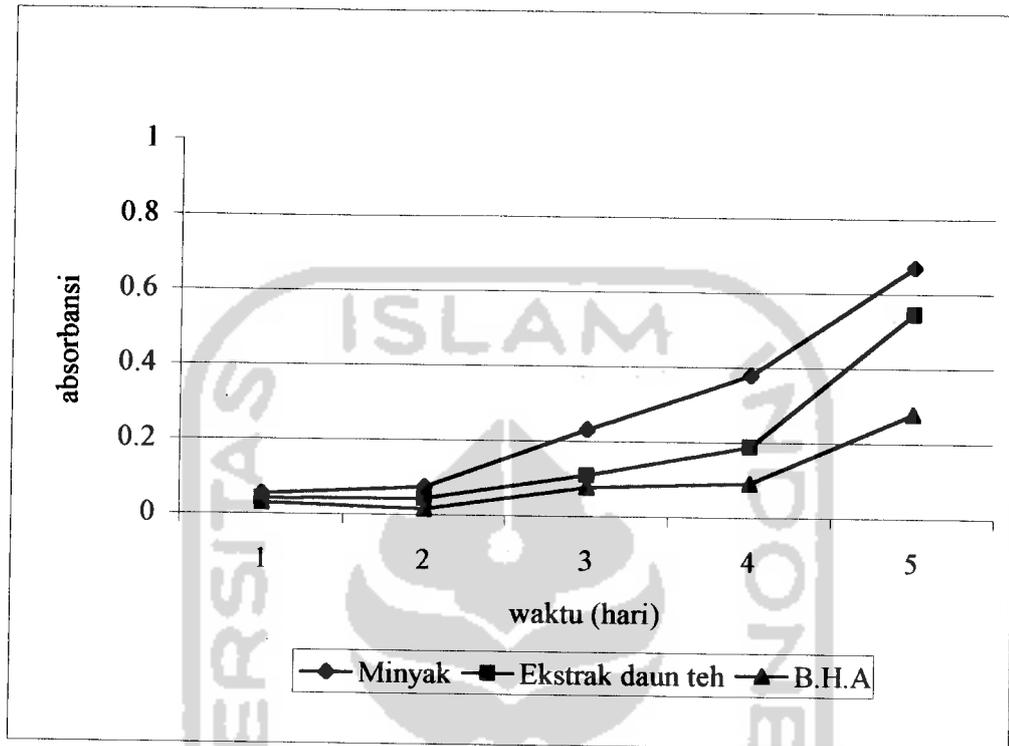
Metode pengujian aktivitas antioksidan yang kedua adalah dengan menggunakan metode tiosianat. Metode ini menggambarkan banyaknya peroksida yang terbentuk selama pemanasan. Reaksi yang terjadi dalam pengujian metode ini adalah peroksida dari asam lemak tak jenuh bereaksi dengan oksigen. Peroksida ini akan mengoksidasi ion fero (Fe^{2+}) menjadi ion feri (Fe^{3+}) dan ion feri selanjutnya akan bereaksi dengan ion tiosianat membentuk kompleks berwarna merah $\{\text{Fe}(\text{CNS})_6\}^{-3}$. Apabila warna merah dari kompleks yang terbentuk semakin intensif, maka hal ini menandakan semakin besar kandungan peroksida dalam sampel.

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat adalah suatu mekanisme pengukuran aktivitas antioksidan dalam menghambat terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif. Proses terbentuknya radikal bebas ini disebabkan oleh oksidasi asam lemak pada kondisi buffer yang diinkubasi pada suhu tertentu. Pengukuran bilangan peroksida sampel dilakukan pada waktu pemanasan selama 1, 2, 3, 4, dan 5 hari, menggunakan besi klorida ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dan amonium tiosianat (NH_4SCN). Senyawa peroksida dinyatakan sebagai senyawa yang dapat mengoksidasi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} . Ion feri akan menghasilkan warna merah bila bereaksi dengan tiosianat, sehingga kompleks yang terbentuk dapat dinyatakan dalam absorbansi pada panjang gelombang 500 nm.

Dengan terhambatnya oksidasi maka peroksida yang terbentuk menjadi lebih sedikit, oleh karenanya Fe^{3+} yang bereaksi dengan tiosianat lebih sedikit pula, dengan begitu absorbansi lebih rendah. Kemampuan antioksidan pada metode tiosianat dilihat dari rendahnya nilai absorbansi yang terbentuk dibandingkan dengan pembanding. Makin rendah absorbansi berarti makin sedikit peroksida yang dihasilkan, hal ini berdasarkan reaksi berikut:



Dari uji aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat ini, diperoleh absorbansi yang disajikan dalam gambar 5.



Gambar 5. Kurva absorbansi versus waktu metode tiosianat

Dari gambar 5, terlihat dengan semakin tinggi nilai absorbansi dari sampel, maka semakin tinggi pula kandungan peroksida dalam sampel tersebut. Sampel pembandingan memiliki nilai absorbansi tertinggi, karena tidak adanya zat yang ditambahkan yaitu zat antioksidan untuk menghambat reaksi oksidasi. Hal ini menyebabkan minyak kedelai yang kandungan asam lemak tidak jenuhnya besar mudah mengalami oksidasi dengan oksigen pada suhu diatas suhu kamar. Dapat dilihat perbedaan yang terjadi dengan penambahan suatu antioksidan pada sampel selain pembandingan yang dapat membantu menghambat reaksi oksidasi asam lemak tidak jenuh dengan oksigen lebih lanjut. Sampel selain pembandingan ini digunakan

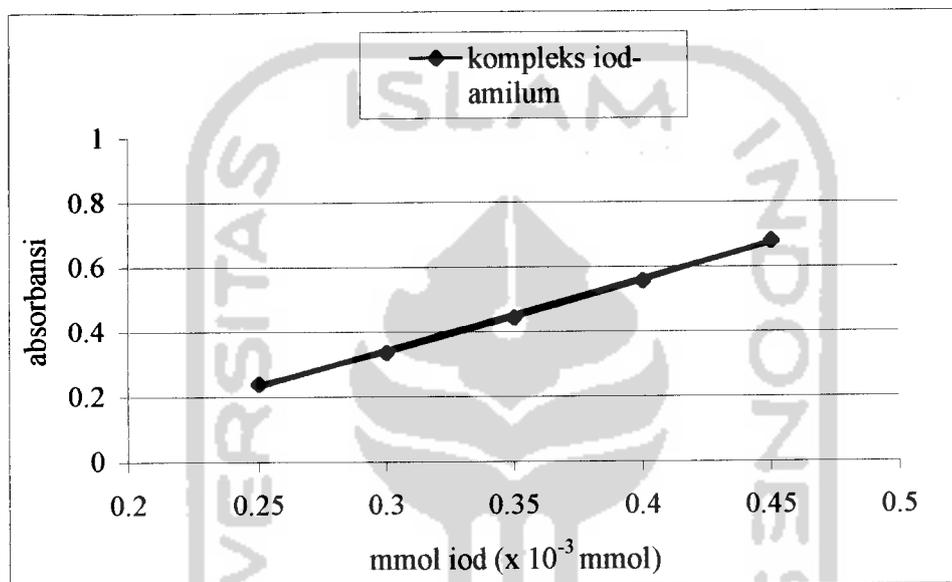
untuk mengetahui berbagai macam keaktifan antioksidan yang diuji dengan metode tiosianat maupun asam tiobarbiturat.

Dari hasil penelitian ini BHA tetap paling efektif berlaku sebagai antioksidan dibanding antioksidan yang lain. Penggunaan BHA pada penelitian ini untuk mengontrol uji apakah perlakuan penelitian pada kedua metode ini dilakukan dengan benar. BHA merupakan antioksidan sintesis yang sering digunakan karena itu digunakan BHA sebagai kontrolnya. Dari hasil uji kedua metode memperlihatkan bahwa ekstrak daun teh mengandung senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan daun teh mempunyai aktivitas yang lebih rendah dibanding BHA. Hal ini dimungkinkan karena hasil ekstraksi tidaklah murni sehingga persen senyawa aktif dalam daun teh yang mempunyai aktivitas antioksidan tidak sama dengan persen BHA dalam keadaan murni pada konsentrasi yang sama. Kedua metode menunjukkan bahwa minyak kedelai mudah rusak teroksidasi karena pemanasan menghasilkan senyawa radikal dan oksidasi ini akan dihambat atau diperlambat dengan adanya senyawa antioksidan yang ditambahkan kedalam minyak kedelai.

5.2.3 Bilangan peroksida

Penentuan bilangan peroksida berprinsip kepada jumlah iod dalam KI yang dibebaskan oleh peroksida. Penentuan didasarkan pada pengukuran absorbansi dari kompleks yang terbentuk antara iod yang dibebaskan oleh peroksida dengan amilum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pada penentuan panjang gelombang maksimum kompleks biru iod-amilum dalam rentang pengukuran antara 400-700 nm diperoleh nilai 583,5 nm sebagai panjang gelombang maksimum kompleks iod-

amilum dan nilai ini yang akan digunakan pada pengukuran absorbansi sampel selanjutnya. Kemudian dibuat pula kurva baku dengan variasi volume penambahan larutan iod pada pembentukan kompleks iod-amilum berturut-turut yaitu : 0,5 mL; 0,6 mL; 0,7 mL; 0,8 mL; 0,9 mL. Dari hasil pengukuran diperoleh kurva baku yang disajikan pada gambar 6.



Gambar 6. Kurva baku penentuan bilangan peroksida

Dari kurva baku penentuan bilangan peroksida pada gambar 6, diperoleh absorbansi kompleks iod-amilum pada panjang gelombang 583,5 nm. Dengan menggunakan analisis regresi linier akan menghasilkan persamaan :

$$Y = (m) (X) + b$$

$$Y = (219,92) (X) + (-0,318)$$

dimana :

Y = absorbansi larutan standar

X = mmol iod (mmol)

$$m = 219,92$$

$$b = -0,318$$

Selanjutnya dilakukan penentuan bilangan peroksida pada sampel yang terdiri dari 3 sampel yaitu : 5 g sampel minyak, 5 g sampel minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat daun teh, dan 5 g sampel minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHA yang kemudian dipanaskan dengan oven selama 24 jam pada suhu 40°C. Tujuan dilakukannya pemanasan adalah agar proses oksidasi minyak dapat segera terjadi dan antioksidan mulai bekerja. Kemudian sampel dikeluarkan dari oven dan dibiarkan suhunya sama dengan suhu kamar untuk kemudian dilakukan penentuan bilangan peroksida dengan pengukuran absorbansi kompleks yang terbentuk pada panjang gelombang 583,5 nm.

Penentuan bilangan peroksida dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis ini berdasarkan pengukuran absorbansi kompleks iod-amilum pada panjang gelombang 583,5 nm. Penentuan bilangan peroksida berdasarkan jumlah iod yang dihasilkan, dimana 1 mol peroksida menghasilkan 1 mol iod. Dalam penentuan bilangan peroksida menggunakan metode titrasi, dapat ditentukan bilangan peroksida melalui jumlah mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang digunakan. Namun, pada metode spektrofotometer ini tidak digunakan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Oleh karena itu, pada penentuan ini digunakan nilai absorbansi sampel, dimana 1 mol iod sama dengan 2 equivalen (eq.) iod. Volume total larutan yang digunakan adalah 48 mL (30 mL x 60% asam asetat + 30 mL aquades = 48 mL), dimana 10 mL lapisan bagian atas digunakan untuk pengukuran absorbansi dan berat sampel yang digunakan adalah 5 g. Oleh karena itu, bilangan peroksida dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(\text{absorbansi} + 0,318)/219,92] \times 2 \text{ meq.} \times (48 \text{ mL}/10 \text{ mL})}{5 \text{ g}}$$

Dengan menggunakan data dari persamaan regresi linier kurva baku dan persamaan penentuan bilangan peroksida, diperoleh bilangan peroksida sampel yang disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil absorbansi dan bilangan peroksida sampel

No.	Sampel	Absorbansi	Bilangan Peroksida (meq/g)
1.	Minyak	0,524	$7,32 \times 10^{-3}$
2.	Minyak	0,524	$7,32 \times 10^{-3}$
3.	Minyak	0,524	$7,32 \times 10^{-3}$
4.	Minyak + Ekstrak daun teh	0,388	$6,21 \times 10^{-3}$
5.	Minyak + Ekstrak daun teh	0,388	$6,21 \times 10^{-3}$
6.	Minyak + Ekstrak daun teh	0,387	$6,21 \times 10^{-3}$
7.	Minyak + B.H.A	0,349	$5,83 \times 10^{-3}$
8.	Minyak + B.H.A	0,349	$5,83 \times 10^{-3}$
9.	Minyak + B.H.A	0,349	$5,83 \times 10^{-3}$

Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa sampel minyak tanpa penambahan antioksidan memiliki nilai absorbansi tertinggi, dilanjutkan dengan minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat daun teh, dan minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHA. Nilai absorbansi yang semakin tinggi menunjukkan bahwa peroksida yang terbentuk semakin banyak karena intensitas warna kompleks yang semakin tinggi. Hal ini berarti bahwa iod yang dibebaskan oleh peroksida semakin banyak pula yang nantinya akan bereaksi membentuk kompleks dengan amilum. Dari tabel 4 ditunjukkan bahwa absorbansi tertinggi dimiliki oleh minyak tanpa penambahan antioksidan, hal ini berarti bahwa tingkat oksidasi yang terjadi semakin tinggi. Pada minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat daun teh dan penambahan antioksidan sintetis BHA memiliki nilai absorbansi yang lebih rendah, hal ini menunjukkan bahwa adanya penambahan ekstrak etil asetat daun teh

menghambat terjadinya proses autooksidasi pada minyak dan begitu pula yang terjadi pada penambahan antioksidan sintetis BHA.

Dengan menggunakan persamaan regresi linier yang telah diperoleh, digunakan untuk menentukan bilangan peroksida sampel. Dari tabel 4 ditunjukkan hasil bahwa bilangan peroksida tertinggi dimiliki oleh minyak tanpa penambahan antioksidan, sedangkan bilangan peroksida sampel minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat daun teh dan sampel minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHA memiliki bilangan peroksida yang lebih rendah. Semakin tinggi bilangan peroksida maka semakin banyak peroksida yang terbentuk, hal ini berarti bahwa tingkat oksidasi yang terjadi pada minyak tanpa penambahan antioksidan paling tinggi, karena tidak adanya zat antioksidan yang ditambahkan untuk dapat menghambat terjadinya proses autooksidasi. Dengan demikian dimungkinkan bahwa ada senyawa aktif dalam ekstrak etil asetat daun teh yang dapat berfungsi sebagai antioksidan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pengujian terhadap ekstrak daun teh dapat diambil kesimpulan :

1. Hasil ekstraksi daun teh berupa padatan berwarna coklat kehitaman dengan berat 1,84 g.
2. Senyawa hasil ekstraksi daun teh mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.
3. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode asam tiobarbiturat, metode tiosianat dan bilangan peroksida didapatkan urutan aktivitas sebagai berikut BHA > ekstrak daun teh > kontrol.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan lebih banyak lagi penggunaan dan macam antioksidan asal bahan alam lain untuk memenuhi kebutuhan antioksidan yang semakin banyak diperlukan dari masa ke masa.
2. Perlu dicari metode uji aktivitas antioksidan lain yang lebih sensitif dan selektif sehingga mampu memberikan hasil uji yang lebih baik.
3. Perlu dicari metode pemisahan dan pemurnian senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun teh yang lebih baik.

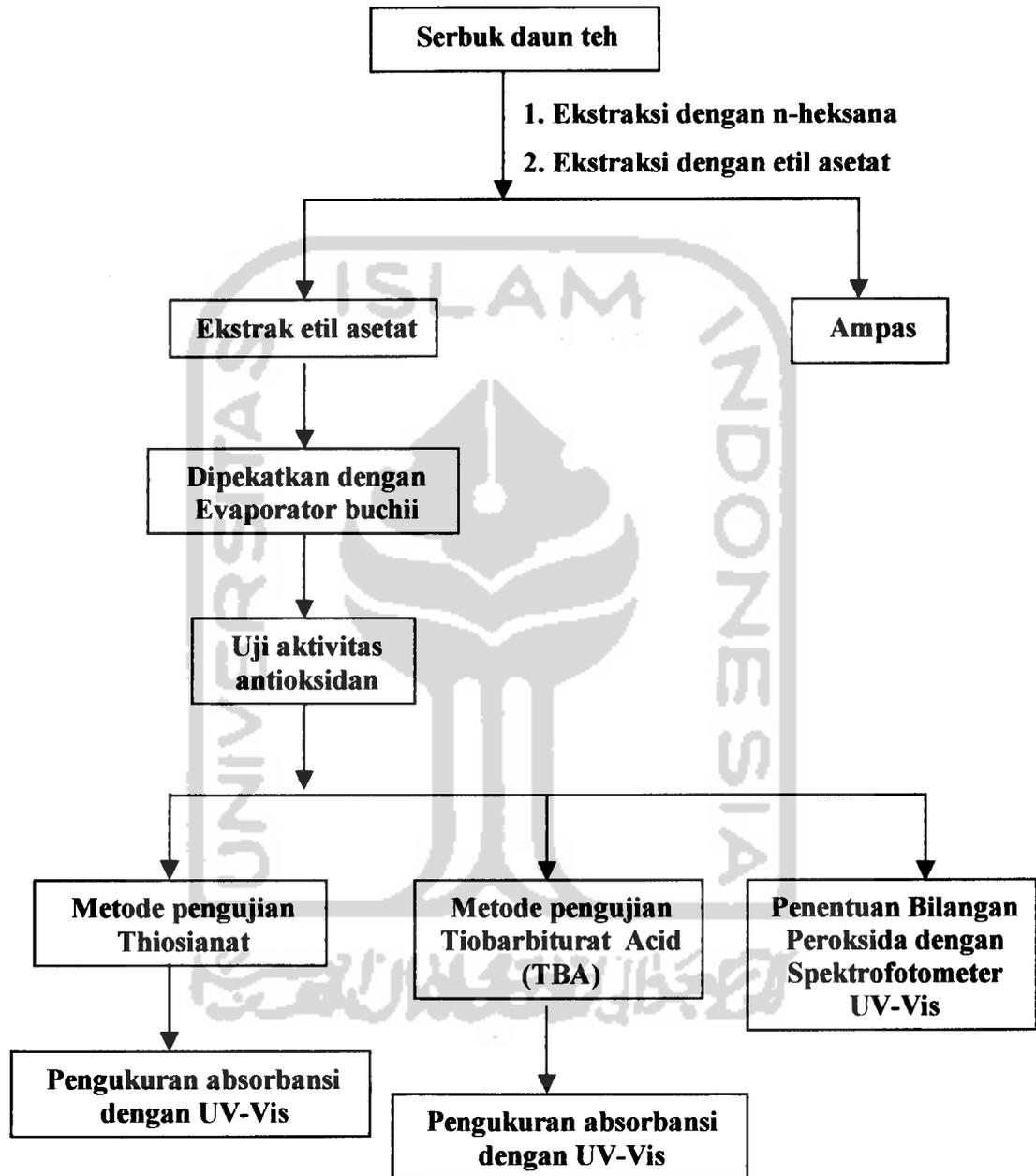
DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Wijaya, C.H., Cahyono, J.T., 1996, *Aktivitas Antioksidan dalam Daun Sirih (Piper betle L.)*, Buletin Teknologi Industri Pangan, Edisi 7
- Anonim, 1996, *Pembudidayaan dan Pengolahan Teh*, Universitas Jenderal Sudirman Press, Purwokerto
- Bailey, A.E., 1950, *Industrial Oils and Fat Products*, 2nd edition, Interscience Publisher Inc., New York
- Chang, S., Matijasevic, B.O., Hsieh, O.A.L., Huang, C.L., 1997, *Natural Antioxidant from Rosemary and Sage*, J. Food. Sci., 42 (4), P. 1102
- Day, R.A., Underwood, A.L., 1986, *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi 1, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Day, R.A., Underwood, A.L., 1996, *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi 4, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Eckey, E.W., 1954, *Vegetable Fats and Oil*, Reinhold Publishing Corporation, New York
- Fessenden, R.J dan Fessenden, J.S., 1986, *Kimia Organik*, Diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, A.H., Edisi 3, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Hadisusilo, S., Kumalasari, L., Kosela, S., 1999, *Uji Aktivitas Antioksidan Biji Kluwek (Pangium edule Reinw)*, Seminar Nasional Kimia Bahan Alam, Jogjakarta
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penerbit ITB, Bandung
- Harjanti, S., 2000, *Studi Kinetika Reaksi Oksidasi dan Penentuan Kandungan α -Tokoferol Alami dalam Minyak Sawit*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Hasanah, L., 2001, *Pembuatan Antioksidan dari Eugenol*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Hilditch, T.P., 1949, *Industrial Chemistry of Fats and Waxes*, Edisi 3, Baillieve, Tindall and Cox, London

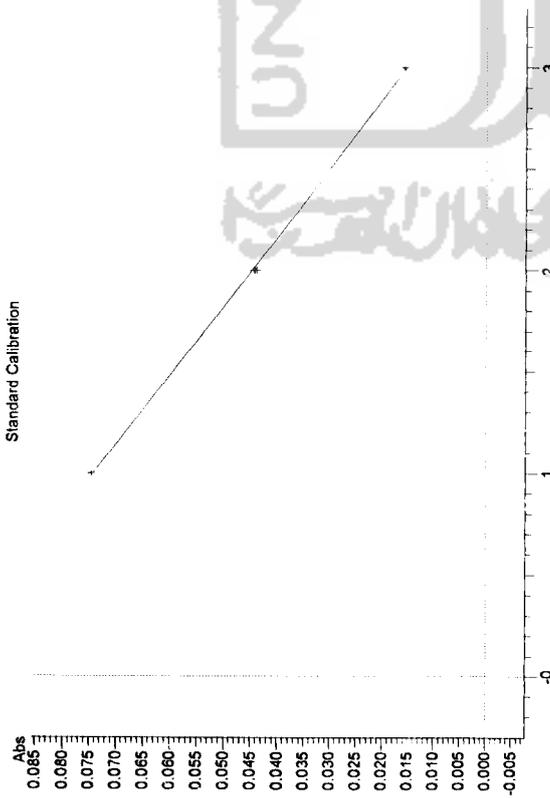
- <http://www.ohioline.ag.ohio-state.edu>, *Spectrophotometric Determination of Lamb Tissue Peroxide Value*, Bulletin, Research and Reviews : Meat 2001, Special Circular 183-02, Tanggal pengambilan 17 Agustus 2003
- Isa, I., 1996, *Optimalisasi Ekstraksi Minyak Kedelai dengan Variasi Pelarut dan Ukuran Serbuk*, Tesis, Program Pasca Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Jacobs, M.B., 1973, *The Chemical Analysis of Foods and Food Products*, 3rd edition, Robert E. Kreger Publishing Co. Inc., Huntington, New York
- Ketaren, S., 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*, Edisi 1, Penerbit UI Press, Jakarta
- Kim, M.C and Pratt, D.E., 1992, *Thermal Degradation of Phenolic Antioxidants*, J. Food .Sci
- Kunarsih, E., 2001, *Uji Aktivitas Antioksidan Hasil Degradasi Kurkumin*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Markley, K.S., 1947, *Fatty Acid*, 1st, Interscience Publishers Inc., New York
- Meloan, C.E., 1999, *Chemical Separations : Principles, Techniques, and Experiments*, John Wiley and Sons Inc., New York
- Meyer, L.H., 1960, *Food Chemistry*, A Fillated East West PVT LTD, New Delhi
- Mulyani, I., Puspitasari-Nienaber, N.L., Fardiaz, S., 1998, *Kajian Aktivitas Antioksidan Berbagai Bumbu Tradisional Olahan Industri*, J. Ilmu Teknologi Pangan. Vol 3, No.1
- Patton, S., 1974, *Malonaldehyde, Lipid Oxidation and The Thiobarbituric Acid Test*, J. American Oil Chem. Soc, 51, p.114
- Pikul, J., Kummerow, F.A., 1991, *Thiobarbituric Acid Reactive Substance Formation As Affected by Distribution of Polyenoic Fatty Acids in Individual Phospholipids*, J. Agric. Food Chem, 39, 451-457
- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Spektroskopi*, edisi 2, Penerbit Liberty, Jogjakarta
- Scott, G., 1965, *Atmospheric Oxidation and Antioxidants*, Elsevier Publishing Company, New York
- Schultz, H.W., Day, E.A., Sinnhuber, R.O., 1962, *Symposium on Foods : Lipid and their Oxidation*, The Avi Publishing Company Inc., West Port Connecticut

- Shevla, G, 1985, *Vogel's Textbook of Macro and Semimicro Qualitative Inorganic Analysis*, fifth edition, Longman Inc., New York
- Suwandi, R., Hidayat, 1995, *Evaluasi Sifat Antioksidan dari Kunyit (Curcuma longa L) sebagai Bahan Penghambat Kemunduran Mutu Ikan Olahan dalam Suatu Model*, Laporan Penelitian, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Swern, D., 1964, *Bailey's Industrial Oil and Fats Product*, 3rd edition, Interscience Publisher Inc., New York
- Tranggono, Sutardi, Haryadi, Suparno, Murdiati, A., Sudarmadji, S., Rahayu, K., Naruki, S., Astuti, M., 1990, *Bahan Tambahan Pangan (Food Additives)*, PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Triebold, H.O., 1963, *Food Composition and Analysis*, D. Van Nostrand Company Inc., New York
- Winarno, F.G., 1991, *Kimia Pangan dan Gizi*, Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Winarno, F.G., 1993, *Pangan Gizi, Teknologi, dan Konsumen*, Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Yamamoto, T., Juneja, L.R., Chu, D.C., Kim, M., 1997, *Chemistry and Applications of Green Tea*, CRC Press, Boca Raton, Florida

Lampiran 2. Skematika Kerja



Report Date: 10:51:54, 08/07/2003



Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc()	Avg Conc	Std Dev
5 B	0.044	2	0	0.0000 0.0000
6 B	0.044	2	0	0.0000 0.0000
7 C	0.016	3	0	0.0000 0.0000
8 C	0.016	3	0	0.0000 0.0000
9 C	0.016	3	0	0.0000 0.0000

Calibration type: 1st order

Force curve through zero: No

Start 0: 1

End 0: 3

A0: 0.1038

A1: -0.0294

R: 0.9998

R2: 0.9996

Samp No. / Name

Abs(500.0) Conc() Avg Conc

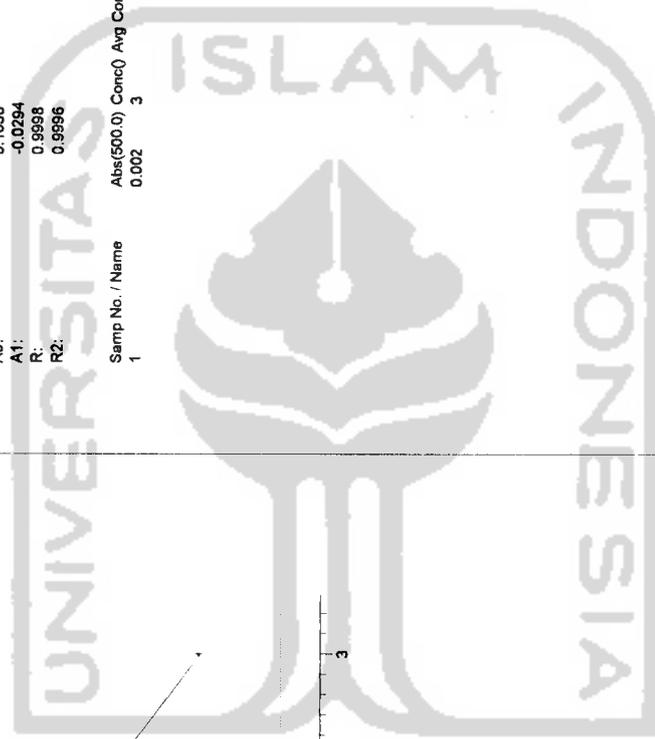
0.002 3

Sample: METODE DE TIOSIANAT
Run Date: 14:17:38, 08/06/2003
Operator: Irmam
Comment:

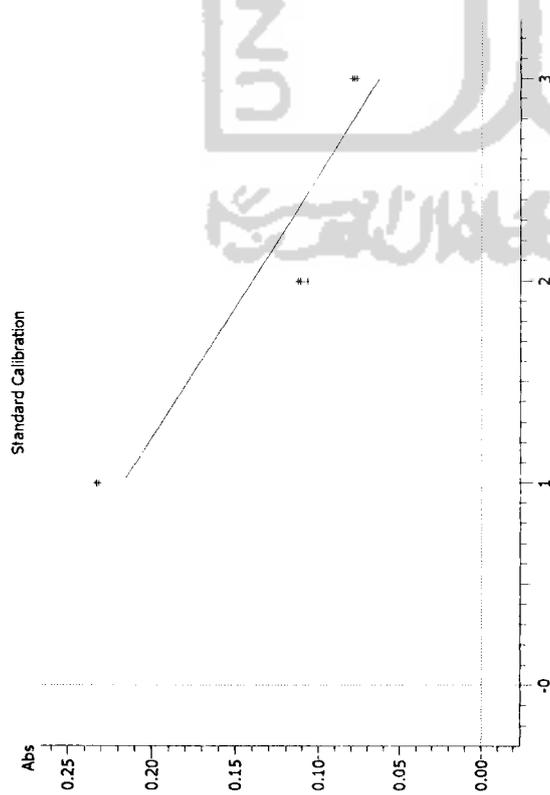
Instrument: U-2010 Spectrophotometer
Model:
Serial Number: 0000-000
ROM Version: 2550 01

Instrument Parameters
Measurement Type: Photometry
Data Mode: Abs
Number of Wavelengths: 1
Wavelength 1: 500.0 nm
Slit Width: 2 nm
Lamp Change: 340.0 nm
Baseline Correction: System
Path Length: 10.0 mm

Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc()	diff R
1 A	0.075	1	0 0.0000 0.0000
2 A	0.075	1	0 0.0000 0.0000
3 A	0.075	1	0 0.0030 0.0000
r B	0.045	2	0 0.0000 0.0000



Report Date: 11:32:09, 08/08/2003



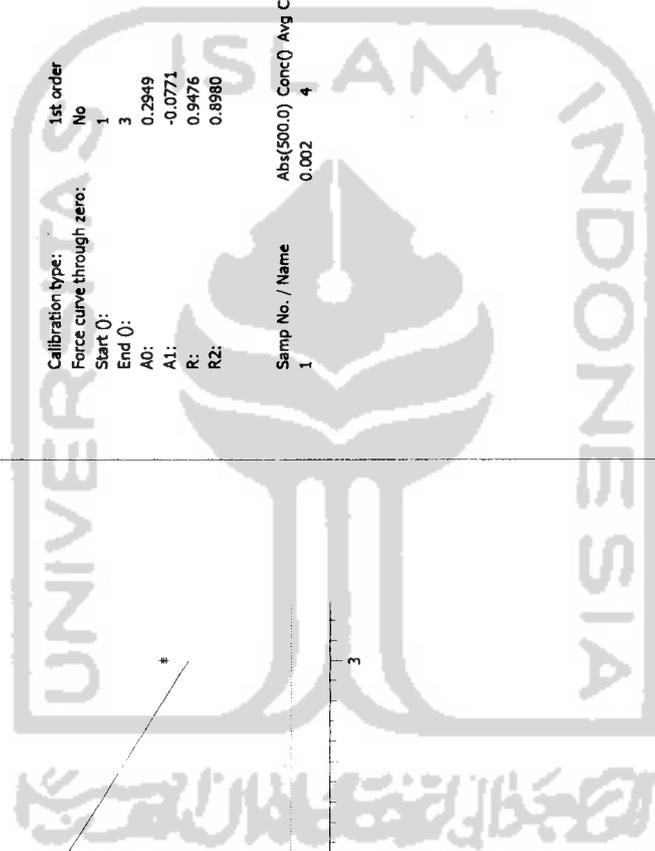
Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc0	diff	RD	t
1 A	0.233	1	-0	-141.65	-0.6825
2 A	0.232	1	-0	-129.66	-0.6248
3 A	0.233	1	-0	-142.57	-0.6870
4 B	0.107	2	0	308.20	1.4850
5 B	0.112	2	0	266.70	1.2851
6 B	0.113	2	0	252.87	1.2184
7 C	0.077	3	-0	-127.20	-0.6129
8 C	0.078	3	-0	-138.27	-0.6662
9 C	0.080	3	-0	-148.41	-0.7151

Calibration type: 1st order
Force curve through zero:
Start 0: 1
End 0: 3
A0: 0.2949
A1: -0.0771
R: 0.9476
R2: 0.8980

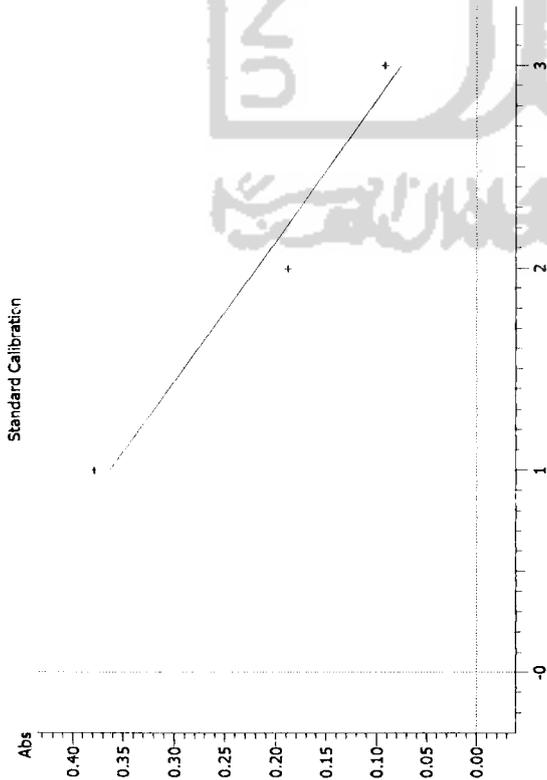
Samp No. / Name Abs(500.0) Conc0 Avg Conc [SD][CV] (%)
1 0.002 4

Sample: METODE TIOSIANAT
Run Date: 11:26:44, 08/07/2003
Operator: Irman
Comment:
Instrument: U-2010 Spectrophotometer
Model: 0000-000
Serial Number: 2550 01
ROM Version:

Instrument Parameters
Measurement Type: Photomet
Data Mode: Abs
Number of Wavelengths: 1
Wavelength 1: 500.0 nir
Slit Width: 2 nm
Lamp Change: 340.0 nir
Baseline Correction: System
Path Length: 10.0 mm



Report Date: 10:52:52, 08/08/2003



Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc0	diff	RD	t
1 A	0.379	1	-0	-50.618	-0.6866
2 A	0.379	1	-0	-49.985	-0.6780
3 A	0.378	1	-0	-46.815	-0.6350
4 B	0.189	2	0	97.962	1.3288
5 B	0.189	2	0	97.962	1.3288
6 B	0.189	2	0	98.913	1.3417
7 C	0.092	3	-0	-51.358	-0.6966
8 C	0.091	3	-0	-47.555	-0.6450
9 C	0.091	3	-0	-48.506	-0.6579

Calibration type: 1st order

Force curve through zero:

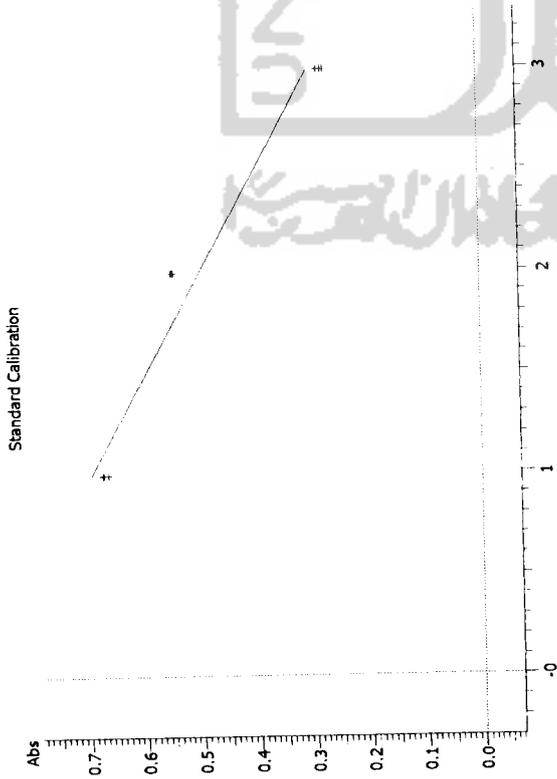
Start 0: 1
End 0: 3
A0: 0.5069
A1: -0.1436
R: 0.9830
R2: 0.9662

Samp No. / Name Abs(500.0) Conc0 Avg Conc [SD][CV] (%)
1 -0.001 4

Sample: METODE TIOSIANAT
Run Date: 10:38:27, 08/08/2003
Operator: Irman
Comment:
Instrument: U-2010 Spectrophotometer
Model:
Serial Number: 0000-000
ROM Version: 2550 01

Instrument Parameters
Measurement Type: Photometry
Data Mode: Abs
Number of Wavelengths: 1
Wavelength 1: 500.0 nm
Slit Width: 2 mm
Lamp Change: 340.0 nm
Baseline Correction: System
Path Length: 10.0 mm

Report Date: 10:53:03, 08/09/2003



Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc	diff	RD	t
1 A	0.664	1	0	30.471	0.8335
2 A	0.672	1	0	22.773	0.6229
3 A	0.674	1	0	20.618	0.5640
4 B	0.544	2	-0	-47.154	-1.2899
5 B	0.546	2	-0	-49.104	-1.3432
6 B	0.549	2	-0	-51.465	-1.4078
7 C	0.285	3	0	0.0000	0.0000
8 C	0.278	3	0	25.476	0.6969
9 C	0.274	3	0	29.786	0.8148

Calibration type: 1st order

Force curve through zero:

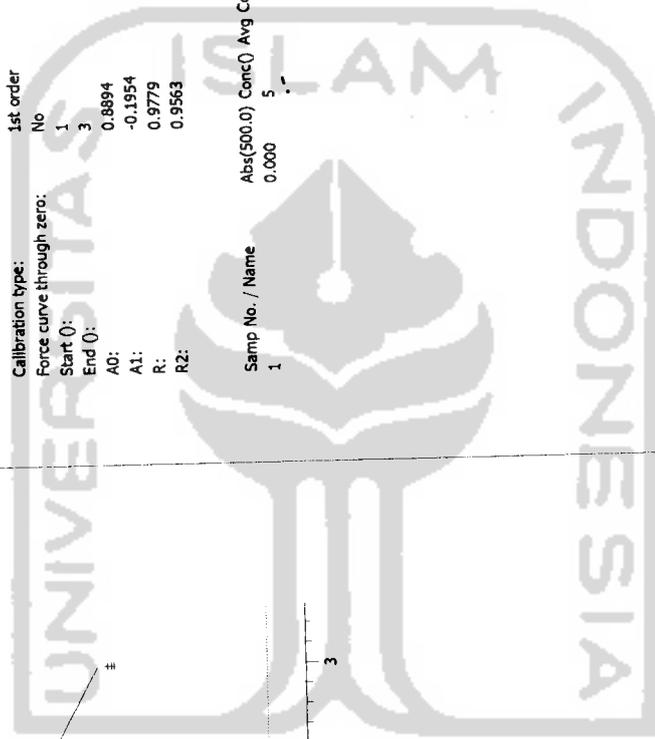
Start 0: 1
End 0: 3
A0: 0.8894
A1: -0.1954
R: 0.9779
R2: 0.9563

Samp No. / Name Abs(500.0) Conc Avg Conc [SD][CV] (%)
1 0.000 5 0.000

Sample: METODE TIOSIANAT
Run Date: 10:42:11, 08/09/2003
Operator: Irman
Comment:

Instrument: U-2010 Spectrophotometer
Model: 0000-000
Serial Number: 2550 01
ROM Version:

Instrument Parameters
Measurement Type: Photometry
Data Mode: Abs
Number of Wavelengths: 1
Wavelength 1: 500.0 nm
Slit Width: 2 nm
Lamp Change: 340.0 nm
Baseline Correction: System
Path Length: 10.0 mm



Report Date: 10:52:28, 08/07/2003



Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc(%)	Avg Conc [SD][CV] (%)
5 B	0.124	2	0 230.65 1.3253
6 B	0.123	2	0 232.73 1.3372
7 C	0.072	3	-0 -116.83 -0.6713
8 C	0.071	3	-0 -112.32 -0.6454
9 C	0.073	3	-0 -118.91 -0.6832

Calibration type: 1st order
 Force curve through zero: No
 Start O: 1
 End O: 3
 AQ: 0.4934
 A1: -0.1516
 R: 0.9341
 R2: 0.8725

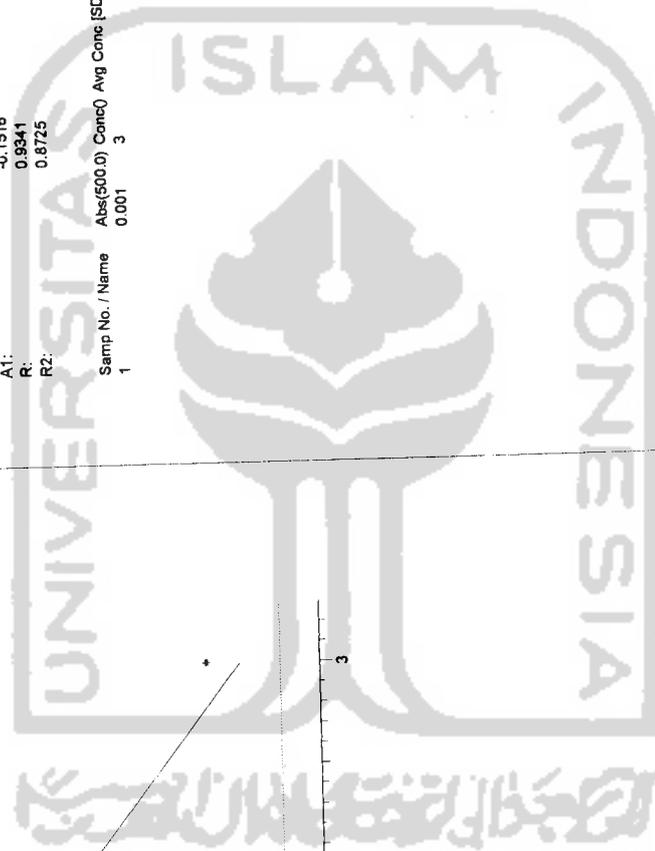
Samp No. / Name Abs(500.0) Conc(%) Avg Conc [SD][CV] (%)
 1 0.001 3 0.001

Sample: METODE TBA
 Run Date: 14:13:33, 08/06/2003
 Operator: Irman
 Comment:

Instrument Model: U-2010 Spectrophotometer
 Serial Number: 0000-000
 ROM Version: 2550.01

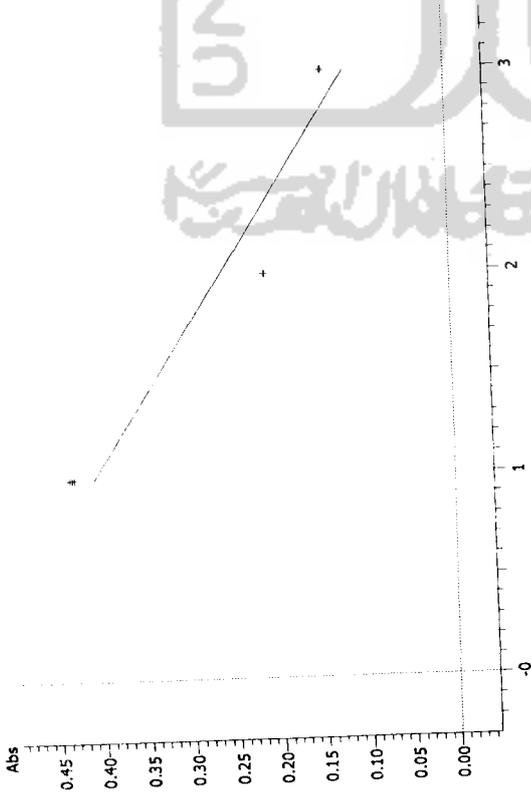
Instrument Parameters
 Measurement Type: Photometry
 Data Mode: Abs
 Number of Wavelengths: 1
 Wavelength 1: 532.0 nm
 Slit Width: 2 nm
 Lamp Change: 340.0 nm
 Baseline Correction: System
 Path Length: 10.0 mm

Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc(%)	diff RC
1 A	0.375	1	-0 -115.44 -0.6633
2 A	0.375	1	-0 -115.44 -0.6633
3 A	0.376	1	-0 -117.18 -0.6733
4 B	0.123	2	0 232.73 1.3372



Report Date: 10:53:14, 08/07/2003

Standard Calibration



Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc	diff	RD	t
1 A	0.430	1	-0	-59.784	-0.6078
2 A	0.432	1	-0	-65.011	-0.6610
3 A	0.435	1	-0	-71.807	-0.7301
4 B	0.210	2	0	132.64	1.3486
5 B	0.211	2	0	130.28	1.3246
6 B	0.211	2	0	130.28	1.3246
7 C	0.140	3	-0	-67.277	-0.6840
8 C	0.139	3	-0	-65.708	-0.6681
9 C	0.138	3	-0	-63.617	-0.6468

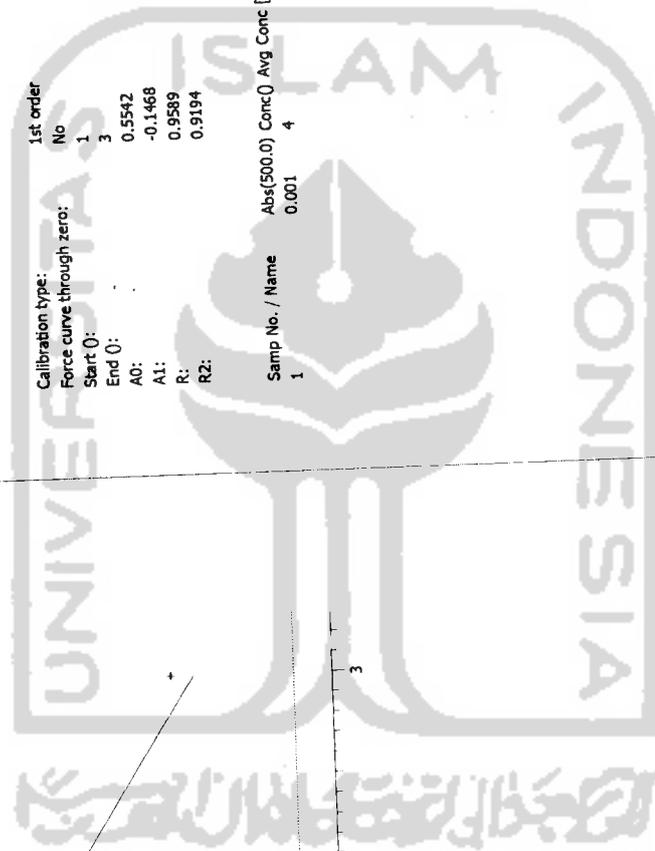
Calibration type:

Force curve through zero:
Start 0: 1
End 0: 3
A0: 0.5542
A1: -0.1468
R: 0.9589
R2: 0.9194

Samp No. / Name Abs(500.0) Conc Avg Conc [SD][CV] (%)
1 0.001 4

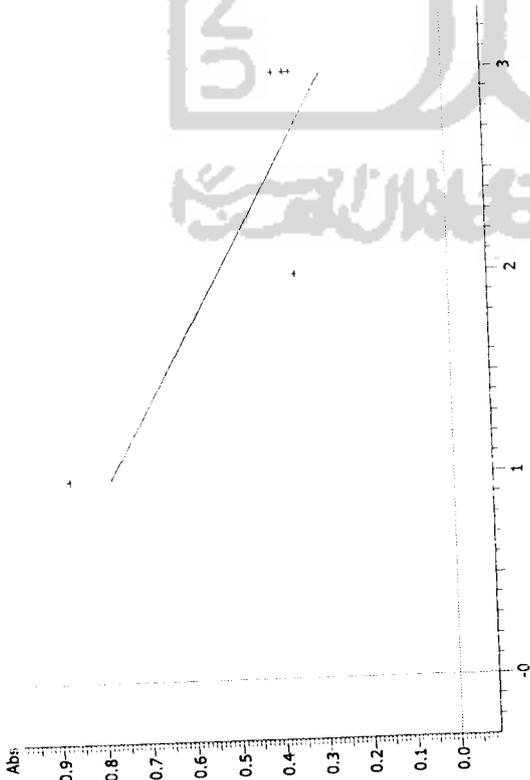
Sample: METODE TBA
Run Date: 10:45:30, 08/07/2003
Operator: Iman
Comment:
Instrument: U-2010 Spectrophotometer
Model: 0000-000
Serial Number: 2350 01
ROM Version:

Instrument Parameters
Measurement Type: Photometry
Data Mode: Abs
Number of Wavelengths: 1
Wavelength 1: 532.0 nm
Wavelength 2: 2 nm
Slit Width: 340.0 nm
Lamp Change: System
Baseline Correction: 10.0 nm
Path Length:



Report Date: 11:31:18, 08/09/2003

Standard Calibration



Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc	diff	RD	t
1 A	0.869	1	-0	-67.633	-0.6663
2 A	0.868	1	-0	-67.180	-0.6618
3 A	0.869	1	-0	-67.633	-0.6663
4 B	0.349	2	1	135.82	1.3380
5 B	0.351	2	1	134.69	1.3269
6 B	0.351	2	1	134.38	1.3239
7 C	0.390	3	-0	-83.978	-0.8273
8 C	0.364	3	-0	-64.334	-0.6338
9 C	0.350	3	-0	-54.134	-0.5333

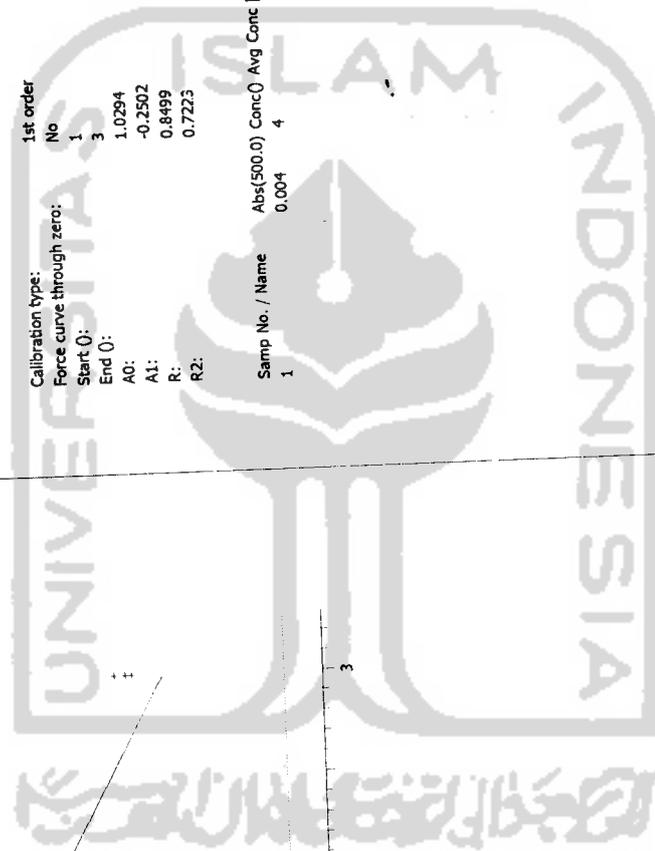
Calibration type: 1st order

Force curve through zero:
 Start 0: No 1
 End 0: 3
 A0: 1.0294
 A1: -0.2502
 R: 0.8499
 R2: 0.7225

Samp No. / Name	Abs(500.0)	Conc	Avg Conc	[SD][CV] (%)
1	0.004	4		

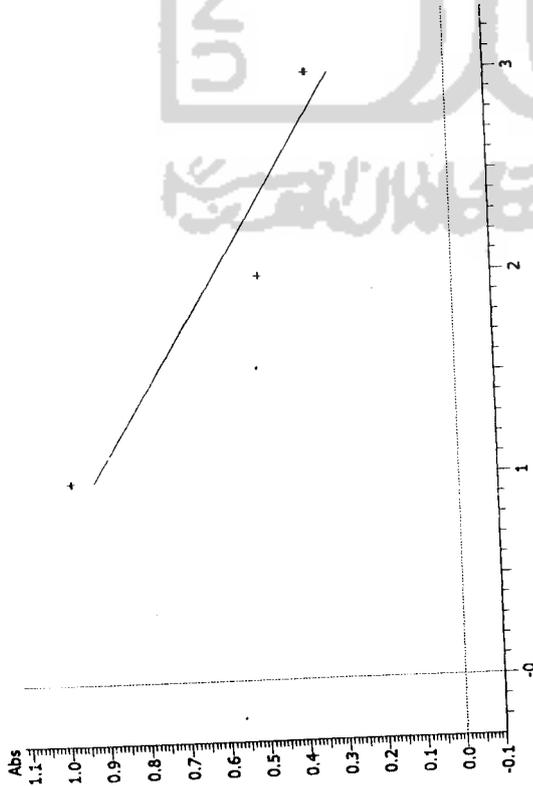
Sample: METODE TBA
 Run Date: 11:27:25, 08/08/2003
 Operator: Irman
 Comment:
 Instrument: U-2010 Spectrophotometer
 Model: 0000-000
 Serial Number: 2550 01
 ROM Version:

Instrument Parameters
 Measurement Type: Photometry
 Data Mode: Abs
 Number of Wavelengths: 1
 Wavelength 1: 532.0 nm
 Slit Width: 2 nm
 Lamp Change: 340.0 nm
 Baseline Correction: System
 Path Length: 10.0 mm



Report Date: 10:53:27, 08/09/2003

Standard Calibration



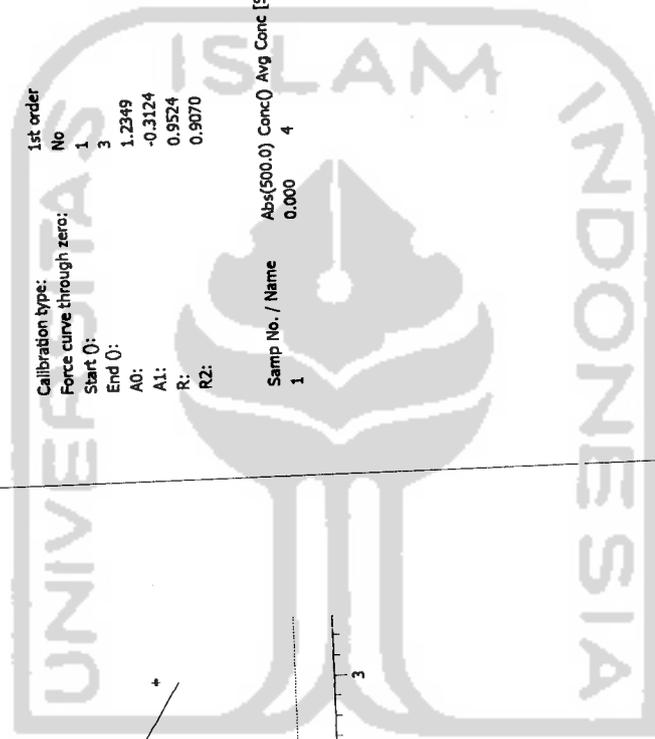
Std No. / Name	Abs(500.0)	Conc(0)	diff	RD	t
1 A	0.982	1	-0	-31.219	-0.6869
2 A	0.979	1	-0	-29.487	-0.6488
3 A	0.980	1	-0	-30.169	-0.6638
4 B	0.496	2	0	59.884	1.3177
5 B	0.494	2	0	61.090	1.3442
6 B	0.494	2	0	60.776	1.3373
7 C	0.353	3	-0	-29.015	-0.6385
8 C	0.355	3	-0	-30.064	-0.6615
9 C	0.358	3	-0	-31.796	-0.6996

Calibration type: 1st order
Force curve through zero:
Start 0: 1
End 0: 3
A0: 1.2349
A1: -0.3124
R: 0.9524
R2: 0.9070

Samp No. / Name Abs(500.0) Conc(0) Avg Conc [SD][CV] (%)
1 0.000 4

Sample: METODE TBA
Run Date: 10:48:24, 08/09/2003
Operator: Iman
Comment:
Instrument: U-2010 Spectrophotometer
Model:
Serial Number: 0000-000
ROM Version: 2550 01

Instrument Parameters
Measurement Type: Photometr:
Data Mode: Abs
Number of Wavelengths: 1
Wavelength 1: 532.0 nm
Slit Width: 2 nm
Lamp Change: 340.0 nm
Baseline Correction: System
Path Length: 10.0 mm



Report Date: 11:42:14, 08/06/2003

Standard Calibration

Abs	Std No. / Name	Abs(583.5)	Conc()	diff	RD	t
0.75	1	0.2398	1	0	0.0000	0.0000
0.70	2	0.2398	1	0	0.0000	0.0000
0.65	3	0.2402	1	0	0.0000	0.0000
0.60	4	0.3350	2	0	0.0000	0.0000
0.55	5	0.3371	2	0	0.0000	0.0000
0.50	6	0.3356	2	0	0.0000	0.0000
0.45	7	0.4465	3	0	0.0000	0.0000
0.40	8	0.4471	3	0	0.0000	0.0000
0.35	9	0.44.8	3	0	0.0000	0.0000
0.30	10	0.5550	4	0	0.0000	0.0000
0.25	11	0.5566	4	0	0.0000	0.0000
0.20	12	0.5581	4	0	0.0000	0.0000
0.15	13	0.6794	5	0	0.0000	0.0000
0.10	14	0.6788	5	0	0.0000	0.0000
0.05	15	0.6799	5	0	0.0000	0.0000
0.00						
-0.05						

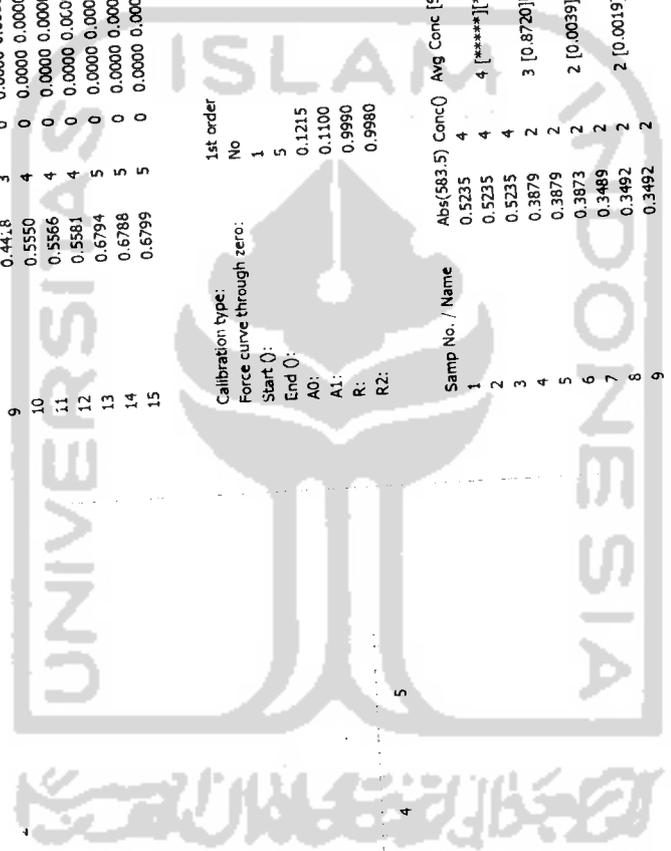
Calibration type: 1st order
 Force curve through zero: No
 Start 0: 1
 End 0: 5
 AO: 0.1215
 A1: 0.1100
 R: 0.9990
 R2: 0.9980

Samp No. / Name	Abs(583.5)	Conc()	Avg Conc	[SD][CV]	(%)
1	0.5235	4	4	[*****]	[*****]
2	0.5235	4	4	[*****]	[*****]
3	0.3879	2	3	[0.8720]	[9.068]
4	0.3879	2	2	[0.0039]	[0.1930]
5	0.3873	2	2	[0.0019]	[0.0965]
6	0.3489	2	2	[0.0019]	[0.0965]
7	0.3492	2	2	[0.0019]	[0.0965]
8	0.3492	2	2	[0.0019]	[0.0965]
9	0.3492	2	2	[0.0019]	[0.0965]

Sample: Kompleks Iod-Amilum
 Run Date: 11:17:54, 08/06/2003
 Operator: Irman
 Comment:

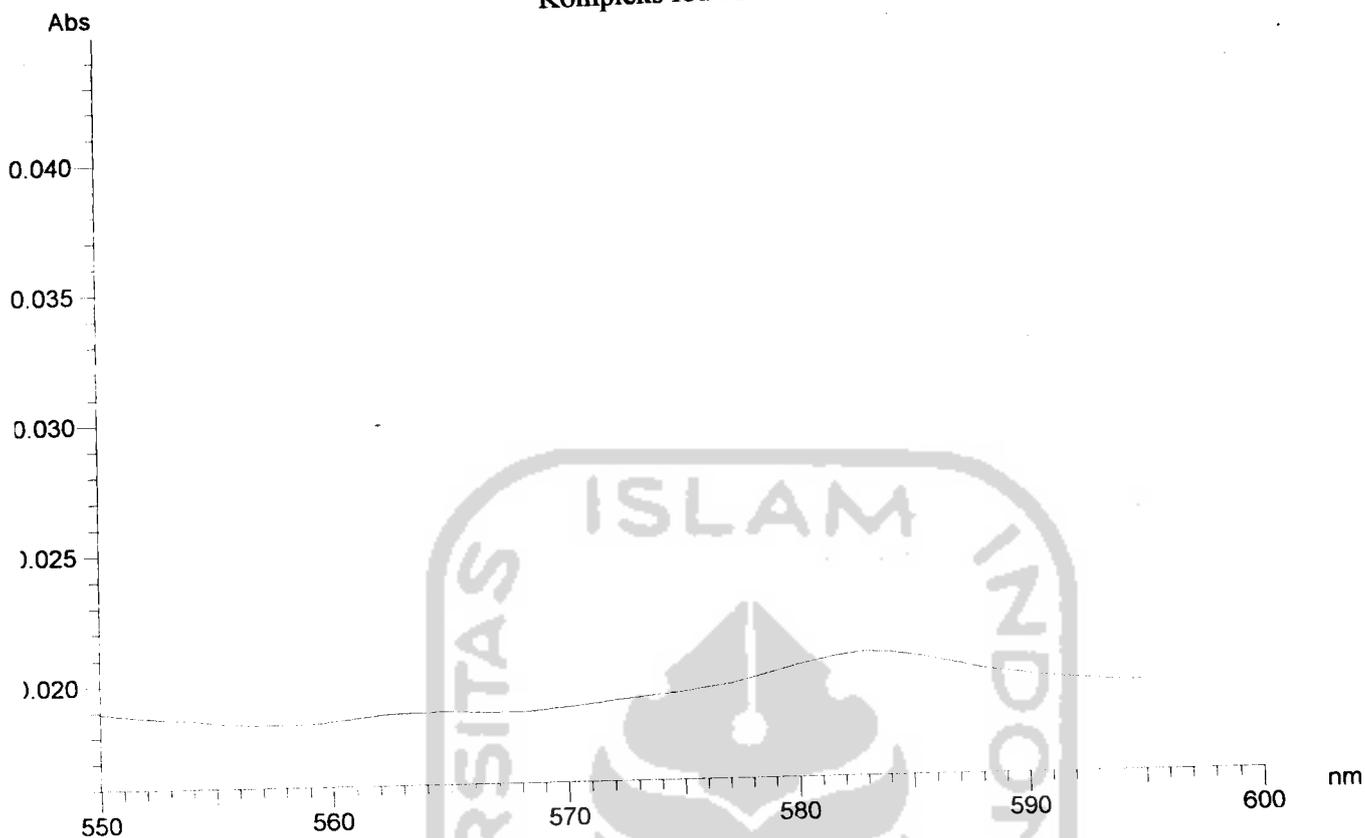
Instrument: U-2000 Spectrophotometer
 Model: 00000000
 Serial Number: 00000000
 ROM Version: 01

Instrument Parameters
 Measurement Type: Photometry
 Data Mode: Abs
 Number of Wavelengths: 1
 Wavelength 1: 583.5 nm
 Slit Width: 2 nm
 Lamp Change: 340.0 nm
 Baseline Correction: System
 Path Length: 10.0 mm



Report Date: 10:47:00, 07/29/2003

Kompleks Iod-Amilum



Sample: 1
Run Date: 10:33:30, 07/29/2003
Operator: default
Comment:

Instrument Model: U-2010 Spectrophotometer
Serial Number: 0000-000
QM Version: 2550 01

Instrument Parameters
Measurement Type: Wavelength Scan
Data Mode: Abs
Starting Wavelength: 600.0 nm
Ending Wavelength: 400.0 nm
Scan Speed: 800 nm/min
Sampling Interval: 0.5 nm
Slit Width: 2 nm
Wavelength Change: 340.0 nm
Baseline Correction: System
Response: Fast
Path Length: 10.0 mm

Processing Performed
Scan Smoothed
Number of Points: 10
Number of Times: 2