

**PENGUKURAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK TEH  
(*Camellia sinensis*) MENGGUNAKAN METODE AGAR PATI IODIN  
BERDASARKAN DIFUSI AGAR**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Via Aprilia  
2017011063**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## **ABSTRAK**

### **PENGUKURAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK TEH (*Camellia sinensis*) MENGGUNAKAN METODE AGAR PATI IODIN BERDASARKAN DIFUSI AGAR**

**Oleh**

**VIA APRILIA**

Radikal bebas diidentifikasi sebagai akar penyebab berbagai masalah kesehatan. Minuman seperti kopi dan teh terbukti memiliki antioksidan yang efektif sebagai bentuk perlindungan terhadap radikal bebas. Metode pengujian antioksidan yang sudah ada membutuhkan biaya mahal. Maka, dibutuhkan metode baru dalam pengujian antioksidan yang sederhana, cepat dan murah.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari, mendapatkan informasi unjuk kerja, menentukan kapasitas antioksidan pada ekstrak teh menggunakan metode agar pati iodin. Karakteristik kinerja dari metode agar pati iodin ditentukan dengan uji linearitas, presisi, akurasi, limit deteksi dan limit kuantifikasi kemudian dievaluasi. Penentuan kapasitas antioksidan dilakukan dengan mengukur diameter area difusi, menghitung luas area, kemudian luas area dianalisis untuk mengetahui kapasitas antioksidan.

Hasil penelitian yang diperoleh metode agar pati iodin memiliki linearitas pada waktu pengamatan 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut sebesar 0,9653; 0,9877; 0,9793 dan 0,9905. Presisi pada waktu 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut sebesar 4,8%; 9,1%; 3,7% dan 3,2%. Pada uji akurasi memiliki rata-rata *%error* dalam pengamatan 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut sebesar 9,87%; 12,2%; 3,72% dan 7,53%. LoD pada waktu 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut adalah 0,0022; 0,0038; 0,0016 dan 0,0011. LoQ berturut-turut adalah 0,0073; 0,0127; 0,0054 dan 0,0037. Performa kinerja terbaik diperoleh pada waktu pengamatan 24 jam. Hasil pengukuran kapasitas antioksidan ekstrak teh konsentrasi 8 mg/mL dengan massa 0,48 mg setara dengan asam askorbat dengan konsentrasi 0,846 mg/mL dengan massa 0,05 mg.

Kata kunci: kapasitas antioksidan, iodin, luas area difusi, ekstrak teh

## **ABSTRACT**

### **MEASUREMENT OF ANTIOXIDANT CAPACITY IN TEA EXTRACTS (*Camellia sinensis*) USING THE IODINE STARCH AGAR METHOD BASED ON AGAR DIFFUSION**

**By**

**VIA APRILIA**

Free radicals are identified as the root cause of various health problems. Drinks such as coffee and tea have been proven to have effective antioxidants as a form of protection against free radicals. Existing antioxidant testing methods are expensive. Therefore, a new method for testing antioxidants is needed that is simple, fast and cheap.

This research aims to study, obtain information on working instructions, determine the antioxidant capacity of tea extracts using the iodine starch agar method. The performance characteristics of the iodine starch agar method were determined by linearity, precision, accuracy, detection limit and quantification limit tests and then evaluated. Determination of antioxidant capacity is carried out by measuring the diameter of the diffuse area, calculating the area, then analyzing the area to determine the antioxidant capacity.

The results of the research showed that the iodine starch method had linearity at observation times of 1, 2, 3 and 24 hours respectively of 0.9653; 0.9877; 0.9793 and 0.9905. Precision at 1, 2, 3 and 24 hours respectively was 4.8%; 9.1%; 3.7% and 3.2%. The accuracy test has an average %error in observations of 1, 2, 3 and 24 hours respectively of 9.87%; 12.2%; 3.72% dan 7.53%. LoD at 1, 2, 3 and 24 hours respectively is 0.0025; 0.0039; 0.0018 and 0.0013. LoQ is 0.0082; 0.0130; 0.0061 and 0.0042. The best performance was obtained at 24 hours observation time. The results of measuring the antioxidant capacity of tea extract with a concentration of 8 mg/mL with a mass of 0.48 mg are equivalent to ascorbic acid with a concentration of 0.846 mg/mL with a mass of 0.05 mg.

Keywords: antioxidant capacity, iodine, diffusion area, tea extract

**PENGUKURAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK TEH  
(*Camellia sinensis*) MENGGUNAKAN METODE AGAR PATI IODIN  
BERDASARKAN DIFUSI AGAR**

**Oleh**

**Via Aprilia**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

Judul Penelitian : **PENGUKURAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK TEH (*Camellia sinensis*) MENGGUNAKAN METODE AGAR PATI IODIN BERDASARKAN DIFUSI AGAR**

Nama : **Via Aprilia**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011063

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



**Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si.**  
NIP. 198009082009122003



**Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc.**  
NIP. 197110301997031003

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA



**Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197205302000032001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si.**

  
.....

**Sekretaris : Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc.**

  
.....

**Penguji  
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.**

  
.....

**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

  
**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197110012005011002

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 23 Januari 2025**

**SURAT PERNYATAAN  
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Via Aprilia  
NPM : 2017011063  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya berjudul **“Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh (*Camellia Sinensis*) Menggunakan Metode Agar Pati Iodin Berdasarkan Difusi Agar”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 27 Januari 2025  
Yang Menyatakan,

The image shows an official stamp from Universitas Lampung. The stamp is rectangular and contains the text 'UNIVERSITAS LAMPUNG' at the top, a logo in the center, and 'METERAI TEMPEL' below it. A handwritten signature is written over the stamp. The stamp also includes the alphanumeric code 'CAMX133858985'.

Via Aprilia  
NPM. 2017011063

## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Via Aprilia, lahir di Bandar Negeri pada tanggal 3 April 2001. Penulis merupakan putri kedua dari pasangan Bapak Irvan Suwarno dan Ibu Sri Lestari.

Saat ini penulis bertempat tinggal di Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur. Penulis menyelesaikan

pendidikan dasar di SD Negeri 1 Bandar Negeri pada tahun 2013. Kemudian, melanjutkan pendidikan ke MTs Al-Fatah Sidomakmur hingga tahun 2016. Penulis menamatkan pendidikan menengah atasnya di MA Al-Fatah Natar pada tahun 2019. Selanjutnya, penulis diterima di Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN pada tahun 2020.

Selama masa kuliah, penulis aktif dalam organisasi Unit Kegiatan Mahasiswa Sains dan Teknologi, khususnya di bidang Dana dan Usaha pada tahun 2021. Pada tahun 2023 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Kota Agung, Kecamatan Kota Agung, Kabupaten Tanggamus sebagai bentuk pengabdian kepada masyarakat dan penulis juga menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung pada tahun 2024 dengan judul “Optimasi Metode Agar Pati Iodin dalam Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh (*Camellia sinensis*)”.

Penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung dengan judul “Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh (*Camellia Sinensis*) Menggunakan Metode Agar Pati Iodin Berdasarkan Difusi Agar”.



## **MOTTO**

"Keberhasilan adalah perjalanan panjang dari satu kegagalan ke kegagalan berikutnya tanpa kehilangan semangat"

**(Winston Churchill)**

"Angin tidak berembus untuk menggoyangkan pepohonan, melainkan menguji kekuatan akarnya"

**(Ali bin Abi Thalib)**

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya"

**(QS. Al-Baqarah : 286)**

"Tidak ada sesuatu yang mustahil untuk dicapai. Tidak ada sesuatu yang mustahil untuk diselesaikan. Karena, Sesungguhnya Allah bebas melaksanakan kehendak-Nya, Dia telah menjadikan untuk setiap sesuatu menurut takarannya"

**(QS. At-Thalaq : 3)**

## PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan *alhamdulillahillobbil'alamin* puji syukur kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang selalu menyertai setiap langkahku, sehingga terciptalah sebuah karya yang ku persembahkan sebagai wujud bakti dan tanggung jawabku kepada:

Bapak Irvan Suwarno dan Ibu Sri Lestari yang telah mengandung, melahirkan, membesarkan, mendidik, memberikan cinta dan kasih sayang, mendoakan, menyemangati, serta senantiasa mendukung dan menemani setiap langkahku. Semoga Allah SWT hadiahkan *Jannah-Nya* untukmu, *Amiin yaa Robbal'alamin*.

Kakak Sri Utami dan Adik Inu Adhasari yang telah mendukung dan mendoakan dalam segala hal. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan keberkahan, keberhasilan, dan kebahagiaan kepada keluarga ini.

Pembimbing penelitianku, Ibu Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si. dan Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc. dan Penguji penelitianku Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. terima kasih atas bimbingan, nasihat, dan ilmu yang telah diberikan selama ini.

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas dedikasi, ilmu, dan bimbingan yang tak ternilai harganya.

Keluarga besar dan sahabat-sahabatku yang memberikan dukungan moral dan spiritual. Terima kasih atas segala doa dan motivasinya.

Serta,

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

## SANWACANA

*Alhamdulillah rabbil 'alamin.* Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya dan tidak lupa iringan shalawat senantiasa kita sanjung agungkan kepada junjungan dan baginda besar kita Nabi Muhammad SAW yang senantiasa diharapkan syafaatnya hingga hari akhir kelak, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh (*Camellia Sinensis*) Menggunakan Metode Agar Pati Iodin Berdasarkan Difusi Agar”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, kritik, saran, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini teriring do'a yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa, Allah SWT, atas nikmat dan karunia yang telah diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (Kemendikbudristek), yang telah memberikan kesempatan kepada penulis menjadi salah satu penerima beasiswa sehingga penulis bisa menduduki bangku perkuliahan.
3. Kedua orang tua penulis, Bapak dan Ibu yang sangat berjasa karena selalu mendukung, mendo'akan, memotivasi, menjadi tempat berkeluh kesah, dan selalu berusaha memberikan yang terbaik kepada penulis. Ucapan terima kasih tidak akan cukup mewakili rasa syukur penulis karena terlahir dan tumbuh sebagai putri yang selalu dididik untuk menjadi lebih baik setiap waktunya. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan, kesehatan,

rezeki, kebahagiaan dunia akhirat, dan umur yang panjang sehingga dapat selalu bersama dalam suka maupun duka yang akan datang.

4. Kakak penulis yang selalu mendukung, mendo'akan, memotivasi, dan menjadi tempat berkeluh kesah. Terima kasih untuk selalu memberikan nasihat-nasihat terbaik dari setiap permasalahan yang dihadapi penulis. Semoga selalu dalam lindungan Allah SWT dan hal-hal baik selalu menyertaimu. Adik penulis yang selalu menghibur dan menjadi penyemangat selama ini. Semoga selalu berbakti kepada orang tua dan sukses untuk dunia dan akhirat.
5. Nenek, Om dan Tante penulis yang selalu mendukung, mendo'akan dan memotivasi. Terima kasih selalu mendoakan hal-hal baik untuk penulis. Semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan, rezeki, kebahagiaan dunia akhirat, dan umur yang panjang.
6. Ibu Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama terima kasih atas segala kebaikan, ilmu, bimbingan, motivasi, kritik dan saran kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan dan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Ibu berikan.
7. Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Kedua terima kasih atas segala ilmu, bimbingan, saran dan kritik sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Semoga Allah SWT selalu memberikan rida-Nya dan membalas semua kebaikan Bapak.
8. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembahas sekaligus dosen pembimbing akademik terima kasih atas kritik, saran, ilmu yang telah diberikan dan dukungan kepada penulis selama menjalani perkuliahan sejak awal masa studi di jurusan kimia. Terima kasih atas segala kesediaannya untuk memberikan yang terbaik untuk penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT selalu memberikan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Bapak berikan.
9. Ibu Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membantu dalam segala hal terkait administrasi dan menyetujui laporan skripsi ini.

10. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing dan memberikan banyak ilmu, pengalaman yang sangat berharga dan bermanfaat, serta motivasi kepada penulis selama menjadi mahasiswi jurusan kimia.
11. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerja Sama FMIPA Universitas Lampung.
12. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
13. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
14. Bapak/Ibu Dosen dan Kepala Laboratorium Jurusan Kimia atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia Universitas Lampung.
15. Sahabat-sahabatku, Pipit, Adinda dan Umi atas segala bantuan, dukungan, dan waktu yang telah kita habiskan selama ini. Terima kasih sudah menemani penulis sejak awal perkuliahan hingga saat ini. Semoga pertemanan ini akan terus terjalin hingga nanti dan semoga kalian selalu diberikan kelancaran dan kesuksesan kedepannya.
16. Sahabat lamtimku, Putri dan Anisa yang selalu siap membantu, mendengarkan keluh kesah, dan memberikan semangat. Semoga pertemanan ini akan terus terjalin hingga nanti dan semoga selalu diberikan kelancaran dan kesuksesan kedepannya.
17. Rekan seperjuangan seperbimbingan Aprilia Nan Sabbit Hakim yang telah banyak membantu, memberikan dukungan, dan bekerja sama sehingga penelitian dan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga dilancarkan untuk setiap urusan dan sukses selalu.
18. Teman-teman angkatan 2020 yang tidak dapat disebutkan satu per-satu, terima kasih atas bantuan serta dukungannya. Semoga selalu diberikan kelancaran dan kesuksesan kedepannya.
19. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per-satu yang telah memberikan dukungan, doa, nasihat, dan bimbingan dalam penulisan laporan ini.

20. Via Aprilia, diriku sendiri. Apresiasi sebesar-besarnya karena telah bertanggung jawab menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih karena telah berusaha keras dan tidak menyerah, serta menikmati setiap proses yang bisa dibilang tidak mudah. Ini merupakan pencapaian yang patut dibanggakan untuk diri sendiri dan awal dari kehidupan yang sesungguhnya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini. Namun, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung, 27 Januari 2025  
Yang Menyatakan,

Via Aprilia  
NPM. 2017011063

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xviii</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Teh.....	4
2.1.1 Tanaman Teh ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	4
2.1.2 Taksonomi Tanaman Teh .....	5
2.1.3 Sejarah Tanaman Teh .....	5
2.1.4 Kandungan Teh .....	6
2.2 Antioksidan.....	7
2.2.1 Pengertian Antioksidan .....	7
2.2.2 Jenis-Jenis Antioksidan .....	8
2.2.3 Macam-Macam Metode Pengukuran Antioksidan.....	8
2.2.4 Metode Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Agar Pati-Iodin Berdasarkan Difusi Agar .....	11
2.3 Validasi Metode.....	12
2.3.1 Linearitas .....	12
2.3.2 Presisi .....	12
2.3.3 Akurasi .....	13
2.3.4 Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantifikasi (LoQ).....	13
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>14</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	14
3.2 Alat dan Bahan .....	14
3.3 Prosedur Penelitian.....	15
3.3.1 Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Metode Agar Pati Iodin.....	15

3.3.2 Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
4.1 Pemilihan dan Lokasi Pengambilan Sampel .....	21
4.2 Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Metode Agar Pati Iodin.....	21
4.2.1 Validasi Metode.....	21
4.2.2 Perbandingan Hasil Pengamatan 1, 2, 3 dan 24 Jam .....	35
4.2.3 Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh dengan Metode Agar Pati Iodin .....	36
4.3 Pengukuran Kapasitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH.....	41
4.4 Evaluasi Perbandingan Metode Agar Pati Iodin dan Metode DPPH dalam Pengukuran Antioksidan .....	43
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>45</b>
5.1 Simpulan.....	45
5.2 Saran.....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>50</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbedaan Metode Pengukuran Kapasitas Antioksidan .....	11
2. Penentuan Presisi pada Pengamatan 1 Jam .....	29
3. Penentuan Presisi pada Pengamatan 2 Jam .....	29
4. Penentuan Presisi pada Pengamatan 3 Jam .....	30
5. Penentuan Presisi pada Pengamatan 24 Jam .....	30
6. Hasil Pengukuran Konsentrasi (mol/L) pada Pengamatan 1 Jam .....	31
7. Hasil Pengukuran Konsentrasi (mol/L) pada Pengamatan 2 Jam .....	31
8. Hasil Pengukuran Konsentrasi (mol/L) pada Pengamatan 3 Jam .....	32
9. Hasil Pengukuran Konsentrasi (mol/L) Pada Pengamatan 24 Jam .....	32
10. Penentuan Lod dan LoQ pada Pengamatan 1 Jam .....	33
11. Penentuan Lod dan LoQ pada Pengamatan 2 Jam .....	34
12. Penentuan Lod dan LoQ pada Pengamatan 3 Jam .....	34
13. Penentuan Lod dan LoQ pada Pengamatan 24 Jam .....	35
14. Perbandingan Hasil dari Pengamatan 1, 2, 3 dan 24 Jam. ....	35
15. Perbandingan Luas Area dari Lima Merek Ekstrak Teh .....	39
16. Hasil Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Teh .....	40
17. Nilai Variasi Konsentrasi Asam Askorbat dan Inhibisi Potensi Antioksidan .	41
18. Hasil Pengukuran Kapasitas Antioksidan .....	43
19. Perbandingan Massa Ekstrak Teh dan Asam Askorbat .....	44

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Teh .....	4
2. Struktur Katekin.....	7
3. Struktur Model Amilum.....	22
4. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 1 Jam.....	23
5. Penentuan Linearitas Asam Askorbat dalam Metode Agar Pati Iodin pada Waktu Pengamatan 1 Jam .....	24
6. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 2 Jam.....	25
7. Penentuan Linearitas Asam Askorbat dalam Metode Agar Pati Iodin pada Waktu Pengamatan 2 Jam. ....	25
8. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 3 Jam.....	26
9. Penentuan Linearitas Asam Askorbat dalam Metode Agar Pati Iodin pada Waktu Pengamatan 3 Jam. ....	26
10. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 24 Jam.....	27
11. Penentuan Linearitas Asam Askorbat dalam Metode Agar Pati Iodin pada Waktu Pengamatan 24 Jam. ....	28
12. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 1 Jam.....	36
13. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 2 Jam.....	37
14. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 3 Jam.....	37
15. Diameter Area Difusi pada Pengamatan 24 Jam.....	38
16. Perbandingan Luas Area Ekstrak Teh .....	39
17. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dan Daya Hambat Asam Askorbat.....	42

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas telah diidentifikasi sebagai akar penyebab berbagai masalah kesehatan dalam tubuh. Minuman seperti kopi dan teh, yang sering diseduh dan dikonsumsi secara harian oleh banyak orang, terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang efektif sebagai bentuk perlindungan terhadap radikal bebas tersebut (Aryanti dkk., 2021). Radikal bebas ini akan menstabilkan dirinya dengan bereaksi dengan molekul sekitarnya untuk mendapatkan pasangan elektron. Reaksi ini akan menjadi reaksi berantai di dalam tubuh dan bila tidak dihentikan dapat menimbulkan berbagai penyakit dalam tubuh (Kikuzaki *et al.*, 2002). Peningkatan radikal bebas secara terus menerus pada sel membentuk kondisi yang disebut stres oksidatif, dimana radikal bebas mengoksidasi dinding pembuluh darah, molekul protein, DNA, karbohidrat, dan lipid. Radikal bebas ini terutama aktif berinteraksi dengan membran lipid yang berisi ikatan tidak jenuh, dan demikian mengubah struktur membran sel (Menshchikova *et al.*, 2008).

Zat atau senyawa yang dapat menghentikan, mengurangi, atau bahkan mencegah terbentuknya radikal bebas baru dalam tubuh dibutuhkan agar terhindar dari akumulasi radikal bebas yang bisa menyebabkan kanker. Senyawa tersebut berfungsi sebagai pendonor elektron yang dapat mengubah radikal bebas menjadi elektron bebas, sehingga mencegah kerusakan pada tubuh. Senyawa ini disebut antioksidan dan memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan tubuh manusia. Antioksidan berfungsi untuk menghambat dan menetralkan reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas (Theafelicia dan Wulan, 2023).

Salah satu jenis tumbuhan yang memiliki berbagai kandungan senyawa antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan adalah tumbuhan teh. Teh banyak diminati dan hampir setiap hari dikonsumsi masyarakat sebagai minuman penyegar maupun minuman kesehatan, karena efek relaksasi yang ditimbulkan serta dipercaya memiliki segudang manfaat bagi kesehatan tubuh diantaranya sebagai antikanker, antioksidan, antijamur, antibakteri, dan mencegah penuaan (Rohadi dkk., 2018). Teh mengandung komponen bioaktif yang disebut polifenol. Senyawa fenol mampu mencegah oksidasi LDL 20 kali lebih kuat dibandingkan dengan vitamin E (Winarsi, 2007). Secara umum polifenol dalam tanaman terdiri atas flavonoid dan asam fenolat. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari polifenol yang juga sangat efektif digunakan sebagai antioksidan (Astawan & Kasih, 2008). Flavonoid sebagai antioksidan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Winarsi, 2007), mampu memperkuat dinding sel darah dan mengatur permeabilitasnya, mengurangi terjadinya proses atherosklerosis di pembuluh darah yang selanjutnya akan mengurangi risiko kematian akibat penyakit jantung koroner (Dalimartha, 1990; Rohdiana, 2011).

Metode pengujian antioksidan yang biasanya paling sering digunakan yaitu DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), *Total phenolics content*, ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)*), CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*), TRAP (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*), TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) dan lain sebagainya (Sardarodiyani and Sani, 2016).

Pengukuran kapasitas antioksidan menggunakan metode yang sederhana, murah dan mudah diaplikasikan untuk mengevaluasi kapasitas ekstrak bahan alam menarik untuk dikembangkan. Salah satu metode yang telah dikembangkan untuk mengukur kapasitas antioksidan adalah metode agar pati iodine yang berdasarkan difusi agar. Metode ini telah diaplikasikan pada pengukuran antioksidan pada cairan tubuh manusia (urin) (Zhao *et al.*, 2016). Dari penelitian tersebut,

metode ini memperoleh hasil linearitas dan presisi yang memenuhi syarat keberterimaan metode uji. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan evaluasi dari unjuk kerja metode agar pati iodin dalam pengukuran kapasitas antioksidan pada ekstrak teh.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mempelajari pengukuran kapasitas antioksidan pada ekstrak teh menggunakan metode agar pati iodin berdasarkan difusi agar.
2. Mendapatkan informasi unjuk kerja metode agar pati iodin dalam pengukuran kapasitas antioksidan.
3. Menentukan kapasitas antioksidan pada ekstrak teh menggunakan metode agar pati iodin.

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai performa/unjuk kerja dari metode agar pati iodin dalam pengukuran kapasitas antioksidan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Teh

#### 2.1.1 Tanaman Teh (*Camellia sinensis*)

Teh (*Camellia sinensis*) yaitu suatu tanaman yang memiliki khasiat obat herbal. Tanaman teh memiliki ciri-ciri batangnya tegak, berkayu, bercabang-cabang, ujung ranting dan daun mudanya berambut halus. Tanaman teh memiliki daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berseling, helai daunnya kaku seperti kulit tipis, panjangnya 6-18 cm, lebarnya 2-6 cm, warnanya hijau, dan permukaan mengkilap. Teh yang baik dihasilkan dari bagian pucuk (peko) ditambah 2-3 helai daun muda, karena pada daun muda tersebut kaya akan senyawa polifenol, kafein serta asam amino. Senyawa-senyawa inilah yang akan mempengaruhi kualitas warna, aroma dan rasa dari teh. Kandungan senyawa kimia dalam daun teh terdiri dari tiga kelompok besar yang masing-masing mempunyai manfaat bagi kesehatan, yakni polifenol, kafein dan essential oil. Zat-zat yang terdapat dalam teh sangat mudah teroksidasi. Bila daun teh terkena sinar matahari, maka proses oksidasi pun terjadi (Ajisaka, 2012).



**Gambar 1.** Tanaman Teh (Dalimoenthe, 2013)

### 2.1.2 Taksonomi Tanaman Teh

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Theaceae
Genus	: <i>Camellia</i>
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i> (Setyamidjaja, 2000).

### 2.1.3 Sejarah Tanaman Teh

Teh merupakan salah satu minuman yang paling banyak dikonsumsi masyarakat luas. Tumbuhan teh, diduga berasal dari daratan Cina yang terletak di pegunungan antara Tibet serta Republik Rakyat Cina (RRC). Tumbuhan teh telah dikenal oleh rakyat Cina di tahun 2737 sebelum Masehi pada masa pemerintahan Kaisar Shen Nung menggunakan nama poplarnya yaitu cha. Menurut legenda mengatakan bahwa seorang Kaisar bernama Shen Nung sedang duduk di bawah naungan pohon teh liar, merebus air minum, ketika angin sepoi-sepoi meniup beberapa daun dari pohon ke dalam panci dan memberi air rasa yang menurutnya lezat. Dia bereksperimen lebih lanjut dan menemukan itu memiliki sifat obat, serta rasa yang menyenangkan. Dia mendesak orang-orang China untuk menanam tanaman untuk kepentingan seluruh bangsa. Seiring waktu, ia telah menjadi Bapak Teh Legendaris dimulai pada abad ke-9, kenikmatan teh menyebar ke negara-negara di luar Cina, pertama ke Jepang dan Korea, kemudian ke Timur Tengah. Tanaman teh dibawa ke Indonesia oleh Dr. Andreas Cleyer tahun 1686. Pada tahun 1728 Belanda memasukkan bibit teh di Indonesia untuk dibudidayakan di pulau Jawa, tetapi tidak berhasil. Dr. Van Siebold pada tahun 1824 melakukan penelitian di Jepang dan menawarkan budidaya tanaman teh tanaman teh berhasil dibudidayakan di Indonesia pada tahun 1826 di Kebun Raya Bogor dan pada

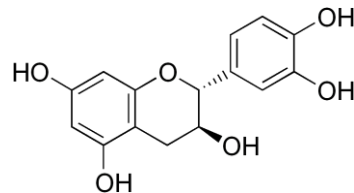
tahun 1827 di budidayakan pada kebun percobaan di Cisurupan, Garut, Jawa Barat pada tahun 1828 komoditi teh menjadi komoditi yang menguntungkan menurut Jacobus Isidorus Loudewijk Levian (Darmawan dkk., 2021).

#### 2.1.4 Kandungan Teh

Senyawa bioaktif pada teh yaitu polifenol, memiliki khasiat bagi kesehatan terutama flavonoid yang merupakan golongan terbesar dari senyawa tersebut yang memiliki efek kardioprotektif, yaitu antioksidan kuat (Sudaryat dkk., 2016). Salah satu senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang tinggi yaitu katekin. Katekin merupakan salah satu senyawa utama yang menentukan mutu pada daun teh dengan kerangka flavan-3-ol (Hasanah dkk., 2012). Daun teh yang kering dapat mengandung sekitar 42% senyawa polifenol dalam bentuk katekin (Rabbani dkk., 2020). Secara umum, daun teh memiliki beberapa jenis katekin diantaranya yaitu katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, epikatekin galat, epigalokatekin galat, dan galokatekin galat (Lee *et al.*, 2014). Epigalokatekin galat merupakan salah satu jenis katekin yang berkontribusi hingga 13% dari total polifenol yang terkandung dalam teh (Rabbani dkk., 2020) dan hanya dapat ditemukan secara alami di dalam teh, tidak seperti jenis katekin lainnya yang dapat ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran (Xu *et al.*, 2019). Selain itu, epigalokatekin galat merupakan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang paling kuat dan melimpah (Du *et al.*, 2012). Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat kerusakan akibat proses oksidasi atau stress oksidatif. Pada tubuh manusia dapat terjadi stres oksidatif yang diakibatkan oleh produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang melebihi kemampuan sel dalam menyediakan respon antioksidan yang efektif (Xu *et al.*, 2019). ROS merupakan molekul reaktif dan radikal bebas yang secara kimia berasal dari turunan molekular oksigen (Anand *et al.*, 2017) seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan radikal hidroksil ( $HO\bullet$ ) (Ray *et al.*, 2012). Molekul reaktif ini bertanggung jawab atas peristiwa buruk yang terjadi di dalam tubuh serta dapat mengakibatkan kematian



sel. Beberapa antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase dapat menetralkan ROS dan melindungi sel-sel tubuh (Anand *et al.*, 2017). Selain itu, tanaman alami seperti teh yang memiliki kandungan senyawa polifenol dapat menjadi antioksidan yang secara langsung dapat menetralkan ROS (He *et al.*, 2018).



**Gambar 2.** Struktur Katekin

## 2.2 Antioksidan

### 2.2.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Parwata, 2016).

Secara kimiawi antioksidan alami yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan dan bahan pangan terutama berasal dari golongan senyawa turunan fenol seperti flavonoid (kuersetin). Sistem kerja antioksidan secara umum dibagi menjadi dua, yaitu enzimatis: Superoxide dismutase (SOD), Katalase (CAT), Peroksidase (POX), Asam askorbat peroksidase (APX), glutathion reduktase (GR) dan polifenol oksidase (PPO) dan nonenzimatis; contohnya asam askorbat (vitamin C), senyawa

fenolik, karotin dan  $\alpha$ -tokoferol. Senyawa fenolik yang sangat aktif sebagai antioksidan alam dan paling banyak ditemukan dalam tanaman diantaranya adalah asam galat dan kuersetin (Maesaroh dkk., 2018).

### **2.2.2 Jenis-Jenis Antioksidan**

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari 3 golongan yaitu:

- a. Antioksidan Primer, yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin.
- b. Antioksidan Sekunder, yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Superoxide Dismutase (SOD), Glutathion Peroxidase (GPx) dan katalase.
- c. Antioksidan Tersier atau repair enzyme, yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, Metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase dan lipase (Parwata, 2016).

### **2.2.3 Macam-Macam Metode Pengukuran Antioksidan**

#### **2.2.3.1 DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)**

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi untuk penapisan aktivitas penangkap radikal bebas. Metode ini terbukti akurat dan praktis dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) (Devitria, 2020). Metode aktivitas antioksidan yang menggunakan radikal bebas stabil

DPPH. Dalam metode ini DPPH bertindak sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji. DPPH akan ditangkap oleh antioksidan melalui donasi atom hidrogen dari antioksidan sehingga membentuk DPPH-H. Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan. Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai *free radical scavengers* atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk (Santi, 2019). Prinsip dari metode DPPH adalah terjadinya interaksi antioksidan dengan DPPH secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan radikal bebas dari DPPH. Hasil dekolorisasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap dan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 517 nm. Adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa nonradikal (*diphenylpicrylhydrazine*). Hal ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radikal bebas tereduksi oleh adanya antioksidan) (Devitria, 2020).

#### **2.2.3.2 ABTS (2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid)**

ABTS merupakan senyawa radikal kation organik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bereaksi pada pH 7,4 berdasarkan waktu dan persentase diskolorasi sebagai bagian dari fungsi konsentrasi. Aktivitas dari ABTS ditandai dengan perubahan warna yang terjadi dari biru atau hijau, menjadi tidak berwarna. Pengukuran ABTS dilakukan, untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam mendonorkan radikal proton, sehingga tercapai kestabilan. Kolorimeter digunakan untuk menghitung secara kuantitatif kemampuan antioksidan tersebut pada panjang gelombang 734 nm. Sama seperti pengukuran lainnya, pengukuran metode ini menggunakan antioksidan pembanding sebagai kurva standar, seperti alfatocopherol, glutathione, dan uric acid. Kelebihan pada penggunaan metode

ABTS atau biasa disebut sebagai TEAC dianggap sebagai metode yang mudah, cepat, dapat digunakan baik pada fasa aqueous ataupun lipid (Fitriana dkk., 2015).

### 2.2.3.3 FRAP

FRAP merupakan metode analisis yang biasa digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan dalam mereduksi Fe(III)-TPTZ menjadi Fe(II)-TPTZ dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru. TPTZ sendiri adalah *colorants* dan Fe(III) merupakan radikal bebas. Kekuatan antioksidan yang diuji menggunakan FRAP, tidak perlu melibatkan perlakuan pre-treatment, karena dianggap konstan dan linear dengan hasil pengujian. Pada pengujian FRAP. Idealnya sampel yang digunakan  $>3000\mu\text{M}$  dan dilarutkan pada air ataupun ethanol, dan dilakukan uji pengulangan dengan pengenceran bertahap untuk pengukuran nilai FRAP. FRAP atau *Ferric Reducing Antioxidant Power* adalah salah satu metode penentuan kandungan antioksidan secara spektrofotometri yang berdasarkan pada reduksi analog feroin, kompleks  $\text{Fe}^{3+}$  dari tripiridiltriazin Fe (TPTZ) $^{3+}$  menjadi kompleks  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe (TPTZ)}^{2+}$  yang berwarna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam. Metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Maryam dkk., 2016).

### 2.2.3.4 CUPRAC

CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) merupakan metode untuk menentukan adanya aktivitas dan mengukur kapasitas antioksidan dari daun yodium terhadap radikal bebas yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer

UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm. Pada pengujian CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*), reagen Cu(II)-neocuproin (Cu(II)-(Nc)<sub>2</sub>) digunakan sebagai agen pengoksidasi kromogenik karena reduksi ion Cu(II) dapat diukur. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah. Metode pengukuran kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode CUPRAC memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain yaitu reagen CUPRAC cukup cepat untuk mengoksidasi tiap jenis antioksidan, pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi selektif karena potensi redoksnya lebih rendah. Reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya (ABTS, DPPH) (Maryam dkk., 2016).

**Tabel 1.** Perbedaan Metode Pengukuran Kapasitas Antioksidan

Metode	Prinsip Metode
DPPH	Reaksi antioksidan dengan radikal organik
ABTS	Reaksi antioksidan dengan radikal kation organik
FRAP	Reaksi antioksidan dengan kompleks Fe(III)
CUPRAC	Reduksi Cu(II) menjadi Cu(I) oleh antioksidan

(Munteanu & Apetrei, 2021).

#### 2.2.4 Metode Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Agar Pati-Iodin Berdasarkan Difusi Agar

Beberapa metode pengukuran kapasitas antioksidan membutuhkan jumlah reagen dan sampel yang besar. Selain itu, memerlukan waktu yang cukup lama. Metode agar pati-iodin dapat mengatasi kekurangan tersebut dalam mengukur kapasitas antioksidan. Dalam metode ini, sampel menyebar dari pusat lubang ke semua sisi dalam agar pati iodin, antioksidan dalam sampel bereaksi dengan oksidan I<sub>2</sub> dalam agar. Warna agar berubah dari biru menjadi tidak berwarna begitu oksidan I<sub>2</sub> dalam agar bereaksi dalam reaksi redoks. Area reaksi redoks menjadi tidak berwarna sementara area non reaksi redoks masih biru, batas dua area tersebut terlihat jelas. Diameter lingkaran diukur dimana oksidan I<sub>2</sub> bereaksi sepenuhnya, dan dimana area reaksi sepenuhnya menjadi tidak berwarna. Jumlah antioksidan

dalam sampel yang berbeda dapat dibandingkan dengan mengukur diameter lingkaran tidak berwarna (termasuk diameter lubang) dengan penggaris dan menghitung luas penyebaran sampel dengan rumus  $S = \pi \times (d/2)^2$ , di mana S adalah area difusi ekstrak teh, d adalah diameter lingkaran tidak berwarna. Dibandingkan dengan metode lainnya, metode agar pati iodine merupakan alternatif yang mudah dan cepat dalam menentukan kapasitas antioksidan (Zhou et al., 2016).

## **2.3 Validasi Metode**

Karakteristik validasi yang sesuai dapat dipertimbangkan secara bersamaan untuk memberikan pengetahuan menyeluruh tentang kemampuan metode analisis, yaitu: linearitas, presisi, akurasi, limit deteksi dan limit kuantifikasi.

### **2.3.1 Linearitas**

Linearitas suatu prosedur analisis adalah kemampuan (dalam rentang tertentu) untuk memperoleh hasil pengujian yang berbanding lurus dengan konsentrasi (jumlah) analit dalam sampel. Hubungan linier harus dievaluasi pada seluruh rentang prosedur analitis. Hal ini dapat ditunjukkan secara langsung pada zat aktif (melalui pengenceran larutan stok standar) atau pada penimbangan terpisah dari campuran sintetik komponen produk, dengan menggunakan prosedur yang diusulkan. Aspek terakhir dapat dipelajari selama penyelidikan jangkauan (EMEA, 1995).

### **2.3.2 Presisi**

Ketepatan suatu prosedur analisis menyatakan kedekatan kesesuaian (derajat penyebaran) antara serangkaian pengukuran yang diperoleh dari beberapa

pengambilan sampel dari sampel homogen yang sama di bawah kondisi yang ditentukan. Presisi dapat dipertimbangkan pada tiga tingkatan: keterulangan, presisi menengah, dan reproduktifitas. Presisi harus diselidiki dengan menggunakan sampel yang homogen dan otentik. Namun, jika tidak mungkin memperoleh sampel yang homogen, maka dapat diselidiki dengan menggunakan sampel buatan atau larutan sampel. Ketepatan suatu prosedur analitis biasanya dinyatakan sebagai varians, standar deviasi, atau koefisien variasi dari serangkaian pengukuran (EMEA, 1995).

### **2.3.3 Akurasi**

Keakuratan suatu prosedur analisis menyatakan kedekatan kesesuaian antara nilai yang diterima baik sebagai nilai konvensional yang sebenarnya atau nilai referensi yang diterima dan nilai yang ditemukan. Hal ini terkadang disebut kebenaran. Akurasi harus ditetapkan pada rentang prosedur analisis yang ditentukan (EMEA, 1995).

### **2.3.4 Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantifikasi (LoQ)**

Limit deteksi atau batas deteksi suatu prosedur analitik individual adalah jumlah analit terendah dalam suatu sampel yang dapat dideteksi tetapi belum tentu dapat diukur sebagai nilai pasti. Beberapa pendekatan untuk menentukan batas deteksi dapat dilakukan bergantung pada apakah prosedurnya non instrumental atau instrumental. Sedangkan limit kuantifikasi adalah jumlah analit terendah dalam suatu sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang sesuai. Batas kuantifikasi adalah parameter pengujian kuantitatif untuk senyawa tingkat rendah dalam matriks sampel dan digunakan khususnya untuk penentuan pengotor/produk degradasi (EMEA, 1995).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2023 – Maret 2024, bertempat di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode agar pati iodin dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, dan pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan di Laboratorium Analisis 2, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium, mikropipet 10 – 100  $\mu\text{L}$ , penggaris, aluminium foil, *hot plate*, neraca analitik, cawan petri dan spektrofotometer UV-Vis.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu agar, pati, iodin, kalium iodida (KI), asam askorbat ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), aquades, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), dan 5 jenis sampel teh (T-01, T-02, T-3, T-04, T-05 dan T-06).



### 3.3 Prosedur Penelitian

Selain menggunakan metode agar pati iodin, pada penelitian ini dilakukan pula pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH untuk membandingkan hasilnya dengan metode agar pati iodin.

#### 3.3.1 Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Metode Agar Pati Iodin

##### 3.3.1.1 Pembuatan Larutan Stok dan Larutan Kerja

a. Pembuatan Larutan Stok Iodin 0,005 mol/L

Kalium iodida ditimbang sebanyak 0,2 g, lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker 100 mL. Kemudian setelah kalium iodida ditimbang, selanjutnya ditimbang 0,13 g iodin dan dimasukkan ke dalam gelas beaker yang sama. Setelah itu tambahkan 10 mL aquades dan diaduk selama beberapa menit hingga kalium iodida dan iodin larut dalam aquades, apabila larutan belum larut sempurna ditambahkan kembali aquades sebanyak 5 mL sampai larut. Pindahkan larutan ke labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan aquades sampai batas tera dan dihomogenkan.

b. Pembuatan Larutan Stok Standar Asam Askorbat 0,1 mol/L

Asam askorbat sebanyak 0,88 g ditimbang menggunakan neraca analitik, lalu dilarutkan dengan 5 mL aquades dalam gelas beaker, lalu disaring menggunakan kertas saring. Kemudian masukkan larutan asam askorbat tersebut ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan aquades sampai batas tera dan dihomogenkan.

c. Pembuatan Larutan Kerja Asam Askorbat

Larutan kerja asam askorbat dibuat dengan cara mengencerkan larutan stok asam askorbat 0,1 mol/L menjadi larutan asam askorbat dengan konsentrasi 0,001 mol/L, 0,005 mol/L, 0,01 mol/L, 0,015 mol/L, dan 0,02 mol/L. Pengenceran dilakukan menggunakan rumus  $M_1V_1 = M_2V_2$ . Adapun prosedur pengenceran larutan asam askorbat 0,1 mol/L adalah sebagai berikut:

1. Larutan asam askorbat 0,001 mol/L

Pipet larutan stok asam askorbat sebanyak 0,5 mL lalu dimasukkan ke labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda tera lalu dihomogenkan.

2. Larutan asam askorbat 0,005 mol/L

Pipet larutan stok asam askorbat sebanyak 2,5 mL lalu dimasukkan ke labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda tera lalu dihomogenkan.

3. Larutan asam askorbat 0,01 mol/L

Pipet larutan stok asam askorbat sebanyak 5 mL lalu dimasukkan ke labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda tera lalu dihomogenkan.

4. Larutan asam askorbat 0,015 mol/L

Pipet larutan stok asam askorbat sebanyak 7,5 mL lalu dimasukkan ke labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda tera lalu dihomogenkan.

5. Larutan asam askorbat 0,02 mol/L

Pipet larutan stok asam askorbat sebanyak 10 mL lalu dimasukkan ke labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda tera lalu dihomogenkan.

d. Pembuatan Ekstrak Teh 8 mg/mL

Sebanyak 2 g teh ditimbang menggunakan neraca analitik. Kemudian diekstrak menggunakan 50 mL aquades 100°C selama 5 menit. Ekstrak teh lalu didinginkan hingga suhu ruang, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Larutan ekstrak kemudian dimasukkan ke labu 50 mL dan volume ditepatkan dengan aquades hingga batas tera. Setelah itu, 10 mL ekstrak tersebut dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Prosedur ini dilakukan pada masing-masing merek teh yang digunakan.

e. Pembuatan Larutan Stok Pati 5 g/L

Pati sebanyak 0,25 g ditimbang menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker 100 mL, lalu dilarutkan dengan 50 mL aquades, setelah itu dipanaskan dan diaduk hingga pati terlarut dan berwarna bening. Sebelum digunakan larutan didinginkan terlebih dahulu.

#### f. Pembuatan Agar Pati Iodin

Sebanyak 1,5 g agar dilarutkan ke dalam 200 mL aquades dan dilakukan pemanasan hingga mencapai suhu 100°C, kemudian pemanasan dilanjutkan selama 3 menit pada temperatur 100°C. Selanjutnya larutan agar dibiarkan dingin. Ketika suhu turun menjadi 55°C, 40 mL 0,005 mol/L larutan I<sub>2</sub> dan 4 mL larutan pati 5 g/L dicampur dengan 200 mL larutan agar (Zhou et al., 2016).

### 3.3.1.2 Validasi Metode

Validasi metode dan pengukuran kapasitas antioksidan menggunakan metode agar pati iodin mengacu pada metode Zhou *et al.* (2016) dengan modifikasi.

#### a. Linearitas

Larutan agar, pati, dan iodin yang telah dibuat dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing 25 mL dengan diameter cawan petri adalah 9 cm. Ketika larutan agar, pati, dan iodin telah memadat, dibuat lubang/sumuran di tengah cawan petri dengan diameter lubang agar adalah 6 mm. Pada penentuan linearitas digunakan 6 cawan petri. 6 cawan tersebut dimasukkan 60 µL blanko dan lima variasi konsentrasi asam askorbat pada bagian sumuran. Semua cawan disimpan dalam gelap pada suhu 4°C selama 24 jam. Diameter area difusi diukur pada pengamatan 1, 2, 3, dan 24 jam dimana oksidan I<sub>2</sub> benar-benar bereaksi dan area reaksi menjadi tidak berwarna. Selanjutnya, luas area difusi dihitung menggunakan rumus:  $S = \pi \times (d/2)^2$ . Setelah didapatkan luas area difusi masing-masing cawan, dibuat kurva regresi antara konsentrasi standar asam askorbat dengan luas area difusi.

#### b. Presisi

Pada penentuan presisi digunakan tujuh cawan petri yang di dalamnya sudah terdapat padatan agar dan dibuat lubang/sumuran pada bagian tengah. Tujuh cawan tersebut dimasukkan 60 µL asam askorbat 0.01 mol/L pada bagian sumuran. Semua cawan disimpan dalam gelap pada suhu 4°C selama 24 jam.

Diameter area difusi diukur pada pengamatan 1, 2, 3, dan 24 jam. Selanjutnya, luas area difusi dihitung menggunakan rumus:  $S = \pi \times (d/2)^2$ . Hasil luas area kemudian dilakukan analisis statistik dan dihitung %RSD terhadap hasil tersebut.

c. Akurasi

Penentuan akurasi hampir sama dengan prosedur presisi, tujuh cawan petri yang di dalamnya sudah terdapat padatan agar dan dibuat lubang/sumuran pada bagian tengah. Tujuh cawan tersebut dimasukkan 60  $\mu$ L asam askorbat 0.01 mol/L pada bagian sumuran. Semua cawan disimpan dalam gelap pada suhu 4°C selama 24 jam. Diameter area difusi diukur pada pengamatan 1, 2, 3, dan 24 jam. Kemudian, luas area difusi dihitung menggunakan rumus:  $S = \pi \times (d/2)^2$ . Setelah itu, dilakukan analisis statistik *true value* terhadap hasil luas area yang diperoleh.

d. Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantifikasi (LoQ)

Dalam penentuan LoD dan LoQ digunakan tujuh cawan petri yang di dalamnya sudah terdapat padatan agar dan dibuat lubang/sumuran pada bagian tengah. Tujuh cawan tersebut dimasukkan 60  $\mu$ L asam askorbat 0.01 mol/L pada bagian sumuran. Semua cawan disimpan dalam gelap pada suhu 4°C selama 24 jam. Diameter area difusi diukur pada pengamatan 1, 2, 3, dan 24 jam. Selanjutnya, luas area difusi dihitung menggunakan rumus:  $S = \pi \times (d/2)^2$ . Kemudian dihitung standar deviasi, LoD ( $3 \times SD$ ), dan LoQ ( $10 \times SD$ ).

### 3.3.2.3 Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh

Cawan petri yang digunakan dalam percobaan ini sebanyak 6 cawan yang di dalamnya sudah terdapat padatan agar dan dibuat lubang/sumuran pada bagian tengah. 6 cawan tersebut dimasukkan 60  $\mu$ L ekstrak teh dari 5 jenis teh yaitu T-01 (teh hitam), T-02 (teh hijau), T-03 (teh hijau), T-04 (teh hitam), T-05 (teh hitam) dan T-06 (teh hitam) pada bagian sumuran. Semua cawan disimpan dalam gelap pada suhu 4°C selama 24 jam. Diameter area difusi diukur

pada pengamatan 1, 2, 3, dan 24 jam. Selanjutnya, luas area difusi dihitung menggunakan rumus:  $S = \pi \times (d/2)^2$ . Hasil luas area kemudian dianalisis untuk mengetahui kapasitas antioksidan dari masing-masing merek.

### **3.3.2 Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

#### **3.3.2.1 Pembuatan Larutan DPPH $4 \times 10^{-4}$ M**

Pembuatan larutan DPPH  $4 \times 10^{-4}$  M dilakukan dengan cara 0,004 g DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan metanol sampai batas tera. Larutan dihomogenkan. Labu ukur ditutup dengan aluminium foil agar terhindar dari cahaya. Larutan DPPH dibuat segar saat akan dilakukan pengujian.

#### **3.3.2.2 Pembuatan Larutan Asam Askorbat**

Larutan stok asam askorbat 0,1 mol/L dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,88 g asam askorbat menggunakan neraca analitik, lalu dilarutkan dengan 5 mL metanol dalam gelas beaker, lalu disaring menggunakan kertas saring. Kemudian masukkan larutan asam askorbat tersebut ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan metanol sampai batas tera dan dihomogenkan. Setelah itu dibuat larutan kerja asam askorbat dengan cara mengencerkan larutan stok asam askorbat 0,1 mol/L menjadi larutan asam askorbat dengan konsentrasi 0,001 mol/L, 0,005 mol/L, 0,01 mol/L, 0,015 mol/L, dan 0,02 mol/L. Pengenceran dilakukan menggunakan rumus  $M_1V_1 = M_2V_2$ .

#### **3.3.2.3 Pembuatan Ekstrak Teh 8 mg/mL**

Sebanyak 2 g teh ditimbang menggunakan neraca analitik. Kemudian diekstrak menggunakan 50 mL metanol selama 5 menit. Kemudian disaring menggunakan

kertas saring. Larutan ekstrak kemudian dimasukkan ke labu 50 mL dan volume ditepatkan dengan metanol hingga batas tera. Setelah itu, 10 mL ekstrak tersebut dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Prosedur ini dilakukan pada masing-masing merek teh yang digunakan.

#### **3.3.2.4 Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Teh**

Disiapkan terlebih dahulu larutan asam askorbat (0,01 mol/L, 0,005 mol/L, 0,01 mol/L, 0,015 mol/L, dan 0,02 mol/L) dan ekstrak teh 8 mg/mL (pelarut metanol) dengan lima jenis sampel yang berbeda. Kemudian blanko (metanol), asam askorbat, dan ekstrak teh dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2,4 mL. Kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan larutan DPPH sebanyak 0,6 mL. Larutan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 517 nm. Setelah itu, dibuat kurva regresi antara konsentrasi asam askorbat dan daya hambat asam askorbat (Julizan dkk, 2019).

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Metode agar pati iodine dapat digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan pada ekstrak teh dengan performa kinerja terbaik pada waktu pengamatan 24 jam.
2. Hasil penelitian yang diperoleh metode agar pati iodine memiliki linearitas pada waktu pengamatan 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut sebesar 0,9653; 0,9877; 0,9793 dan 0,9905. Presisi pada waktu 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut sebesar 4,8%; 9,1%; 3,7% dan 3,2%. Pada uji akurasi memiliki rata-rata *%error* dalam pengamatan 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut sebesar 9,87%; 12,2%; 3,72% dan 7,53%. LoD pada waktu 1, 2, 3 dan 24 jam berturut-turut adalah 0,0022; 0,0038; 0,0016 dan 0,0011. LoQ berturut-turut adalah 0,0073; 0,0127; 0,0054 dan 0,0037.
3. Kapasitas antioksidan ekstrak teh konsentrasi 8 mg/mL (0,48 mg) setara dengan asam askorbat dengan konsentrasi 0,84 mg/mL dengan massa 0,05 mg.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya yaitu melakukan pengukuran diameter area difusi menggunakan

jangka sorong agar hasil pengukuran memiliki ketelitian yang lebih tinggi dan melakukan perbandingan metode agar pati iodin dengan metode uji antioksidan lainnya (selain metode DPPH) untuk mengetahui perbedaan dan persamaan metode agar pati iodin dengan metode lainnya.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ajisaka. 2012. *Teh Dahsyat Khasiatnya*. Penerbit Stomata. Surabaya.
- Anand, A., Chawla, J., Mahajan, A., Sharma, N., and Khurana, N. 2017. Therapeutic Potential of Epigallocatechin Gallate. *International Journal of Green Pharmacy*. 11(3): S364–S370.
- Aryanti, Febrina, L., Annisa, N., dan Rusli, R. 2021. Aktivitas Antioksidan Produk Kopi dan Teh di Kota Samarinda: Antioxidant Activity of Coffee and Tea Products in Samarinda City. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 3(3): 488–491.
- Astawan, M dan Kasih, A.L. 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara. Jakarta.
- Dalimoenthe, S.L. 2013. Pengaruh Media Tanam Organik terhadap Pertumbuhan dan Perakaran pada Fase Awal Benih Teh di Pembibitan. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 16(1): 1–11.
- Darmawan, D., Genua, V., Kristianto, S., Murdaningsih, dan Hutubessy, J.I.B. 2021. *Tanaman Perkebunan Prospektif Indonesia*. Qiara Media. Pasuruan.
- Devitria, R. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Ciplukan menggunakan Metode 2,2-Diphenyl 1-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 9(1): 31–36.
- Du, G.J., Zhang, Z., Wen, X.D., Yu, C., Calway, T., Yuan, C.S., and Wang, C.Z. 2012. Epigallocatechin Gallate (EGCG) is the Most Effective Cancer Chemopreventive Polyphenol in Green Tea. *Nutrients*. 4(11): 1679–1691.
- Eurachem Working Group. 1998. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Eurachem. Teddington.
- European Medicines Agency. 1995. CPMP/ICH/381/95. *ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*. EMEA. London.
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., dan Ersam, T. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi. *SNIP Bandung*. 657-660.
- Hasanah, S.U., Hamdani, S., dan Firmansyah, A. 2012. Perbandingan Kadar Katekin dari Beberapa Jenis Kualitas Teh Hitam (*Camellia sinensis* L. [O] Kuntze) di Pusat

- Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Gambung. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 1(1): 7–12.
- He, J., Xu, L., Yang, L., and Wang, X. 2018. Epigallocatechin Gallate is the Most Effective Catechin Against Antioxidant Stress via Hydrogen Peroxide and Radical Scavenging Activity. *Medical Science Monitor*. 24: 8198–8206.
- Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyantri, D., dan Al Anshori, J. 2019. Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan dengan Metode Dpph. *Kandaga – Media Publikasi Ilmiah Jabatan Fungsional Tenaga Kependidikan*. 1(1).
- Lee, L.S., Kim, S.H., Kim, Y.B., and Kim, Y.C. 2014. Quantitative Analysis of Major Constituents in Green Tea with Different Plucking Periods and Their Antioxidant Activity. *Molecules*. 19(7): 9173–9186.
- Luo, H. 2011. *Extraction of Antioxidant Compounds from Olive (Olea europaea) Leaf*. Massey University. New Zealand.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., dan Al Anshori, J. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. 6(2): 93-100.
- Maryam, S., Baits, M., dan Nadia, A. 2016. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode Frap (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(2): 115–118.
- Maryam, S., Pratama, R., Effendi, N., dan Naid, T. 2016. Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha Multifida* L.) dengan Metode *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(1): 90–93.
- Menshchikova, E.B., Zenkov, N.K., Lankin, V.Z., Bondar, I.A. and Trufakin, V.A. 2008. *Oxidative Stress: Pathological Conditions and Diseases*. ARTA: Novosibirsk. Russia.
- Miller, J.C. and Miller, J.N. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 5<sup>th</sup> Edition*. Pearson Education Limited. Edinburgh Gate.
- Mulyati, A.H., Sutanto, dan Apriyani, D. 2011. Validasi Metode Analisis Kadar Ambroksol Hidroklorida dalam Sediaan Tablet Cystelis secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Ekologia*. 11(2): 36–45
- Munteanu, I.G., and Apetrei, C. 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(7).
- Nurhadi, A. 2012. *Validasi Metode Uji*. AN-Training. Bogor.
- Parwata, M.O. A. 2016. *Antioksidan Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*. Unud. Denpasar.
- Pesek, S., Lehene, M., Brânzanic, A.M.V., and Silaghi-Dumitrescu, R. 2022. On the Origin of the Blue Color in The Iodine/Iodide/Starch Supramolecular Complex. *Molecules*. 27(24).
- Pratama, D.S., Pirdaus, P., Rinawati, Sagala, S.L., dan Suhelmi, I.R. 2015. Validasi Metode Analisis Logam Na, K, Mg dan Ca pada Air Tua (Bittern) Menggunakan Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer (MP-AES). *Jurnal*

*Standardisasi*. 17(3): 187–198.

- Rabbani, H.R., Purwanto, D.A., dan Isnaeni, I. 2020. Effect of Guava Powder Addition on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Content of Green Tea and Its Antioxidant Activity. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6(2): 85-90.
- Ray, P.D., Huang, B.W., and Tsuji, Y. 2012. Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis and Redox Regulation in Cellular Signaling. *Cellular Signalling*. 24(5): 981–990.
- Rohadi, Natalia, F., Widyantika, D., dan Pratiwi, E. 2018. Antioksidatif Minuman Teh (*Camellia sinensis* Linn.). *Jurnal Kelitbangan-Iptekin Wonigiri*. 7(2): 241–249.
- Rohdiana, D. 2011. *Teh Ini Menyehatkan*. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Sinala, S. dan Dewi, S.T.R. 2019. Penentuan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Dari Ekstrak Etanol Propolis dengan Metode DPPH. *Media Farmasi*. 15(1).
- Sardarodiyani, M. and Sani, A.M. 2016. Natural Antioxidants: Sources, Extraction and Application in Food Systems. *Nutrition and Food Science*. 46(3): 363–373.
- Setyamidjaja, D. 2000. *Teh, Budidaya dan Pengolahan Pasca Panen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Sudaryat, Y., Kusmiyati, M., Pelangi, C.R., Rustamsyah, A., dan Rohdiana, D. 2016. Antioxidant Activity of Ten Grades of Indonesia Black Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) liquor. *Jurnal Sains Teh Dan Kina*. 18(2): 95–100.
- Theafelicia, Z., dan Wulan, S.N. 2023. Perbandingan berbagai Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan (DPPH, ABTS dan FRAP) pada Teh Hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 24(1): 35–44.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Xu, X.Y., Zheng, J., Meng, J.M., Gan, R.Y., Mao, Q.Q., Shang, A., Li, B.Y., Wei, X.L., and Li, H.B. 2019. Effects of Food Processing on In Vivo Antioxidant and Hepatoprotective Properties of Green Tea Extracts. *Antioxidants*. 8(12): 572.
- Zhou, Y., Xu, N., Zhang, M., and Liu, H. 2016. A New Method for Measuring Total Antioxidant Capacity in Urine Using the Iodine Starch Agar Based on Agar Diffusion. *Current Analytical Chemistry*. 12(5): 425–430.