

## PRODUKSI *EPIGALLOCATECHIN GALLATE* PADA KULTUR *IN VITRO* KALUS *CAMELLIA SINENSIS* SEBAGAI KANDIDAT PANGAN FUNGSIONAL

PRODUCTION *Epigallocatechin gallate in Vitro Camellia sinensis* Culture Callus as Functional Food Substitute

Sutini\*)

Agrotechnology Department of Agriculture Faculty UPN "Veteran" East Java  
Email :tien\_basuki@yahoo.com

### ABSTRACT

*Epigallocatechin gallate* (EGCG) were secondary metabolite in tea (*Camellia sinensis*) as anti obesity dan degenerative syndrom. EGCG in tea act as bioactive by hydroxyl group and galol that could act as functional food substitute. Problem to find *epigallocatechin gallate* from tea were season dependent, need a large area, and low productivity. By these mean *epigallocatechin gallate* production by in vitro culture. These technique could overcaming all that problem above. General purpose of these research were to find *invitro* EGCG production technique. Method to gain these purpose were : (1) Callus induction by explant sprout tea leaves in media with many variance grown culture (2) Sub culture callus by using same media in induction method (3) qualitative analisys EGCG callus compound. Result of these research; callus hand retention time (tR) on High Performance Liquid Chromatography for 6 minutes, same as EGCG standart. EGCG had potential as aditive functional food and baverage that had astringent or bitter taste

Key words : *Epigallocatechin gallate*, HPLC, retention time, *Camellia sinensis*

### ABSTRAK

*Epigallocatechin gallate* (EGCG) adalah metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman teh (*Camellia sinensis*) sebagai bahan anti obesitas dan penyakit degeneratif. EGCG dalam teh bertindak sebagai senyawa bioaktif karena memiliki gugus hidroksil dan galol yang dapat sebagai kandidat pangan fungsional. Kendala memperoleh *epigallocatechin gallate* dari tanaman teh diantaranya: sangat tergantung musim, memerlukan lahan yang luas, dan tingkat produksinya relatif rendah. Oleh karena itu produksi *epigallocatechin gallate* perlu dikembangkan dengan teknik kultur *in vitro*. Teknik ini dapat mengatasi kendala-kendala tersebut di atas. Tujuan penelitian secara umum adalah memperoleh teknik produksi EGCG secara invitro melalui teknik kultur kalus. Metode yang dilakukan untuk mencapai tujuan tersebut adalah: (1) induksi kalus dengan menanam eksplan potongan pucuk daun teh pada media dengan berbagai zat pengatur tumbuh, (2) Sub kultur kalus menggunakan media yang sama seperti saat induksi (3) Analisis kualitatif senyawa EGCG kalus. Hasil penelitian ini berupa kalus yang memiliki waktu retensi (t<sub>R</sub>) pada High-Performance Liquid Chromatography selama 6 menit yang sama dengan waktu retensi EGCG standar. Senyawa EGCG berpotensi sebagai bahan aditif pada minuman-makanan fungsional terkait dengan rasa kelat atau pahit.

Kata kunci: *Epigallocatechin gallate*, HPLC, waktu retensi, *Camellia sinensis*

## PENDAHULUAN

Senyawa *Epigallocatechin gallate* (EGCG) adalah senyawa metabolit sekunder yang ada dalam pucuk daun teh muda, berkerangka dasar C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> termasuk struktur 2-*phenylbenzopyran* yang mudah dioksidasi pada cincin B (Marais 2007), menyebabkan pembukaan atom oksigen (Caffin dkk., 2004) sehingga bersifat meningkatkan reaktivitas terhadap: (1) ikatan polimer biologi (2) ikatan dengan logam berat (3) mengkatalis transportasi elektron (4) menangkap radikal bebas. Keempat sifat tersebut membuat EGCG bersifat bioaktif, memiliki kasiat anti obesitas yang berperan sebagai zat untuk menghancurkan lemak (Rahardjo, 2005), juga antioksidan yang memberikan efek penetralisasi kuat terhadap senyawa radikal bebas endogen dan eksogen (Murphy Coman, 1999). Radikal bebas tersebut menyerang sistem intraseluler dalam berbagai jaringan tubuh sehingga menyebabkan munculnya tumor, kanker, dan berbagai penyakit degeneratif lainnya.

Melalui Kementerian Pertanian Republik Indonesia Rencana Strategis Kementerian 2010 ditetapkan teh sebagai salah satu Komoditas Unggulan Nasional. Menurut Julian 2008, Indonesia adalah negara pengekspor teh yang mendapat peringkat ke 3 di tingkat internasional dengan kontribusi sebesar 5 % dari produk teh dunia, namun kontribusi ini masih di bawah kontribusi Cina dan Vietnam. Namun menurut Nurunisa 2011, subsistem budidaya agribisnis teh Indonesia sedang dihadapkan oleh kondisi penurunan luas area perkebunan. Hal ini tentu berpengaruh terhadap volume produksi teh Indonesia. Selama periode 2000-2009 telah terjadi penurunan luas area perkebunan teh sebesar 2,18 persen setiap tahun. Penurunan luas areal ini kemudian berdampak pada penurunan produksi teh nasional, dimana selama tahun 2000 hingga tahun 2010 terjadi penurunan produksi

rata-rata sebesar 0,83 persen. Di sisi lain, penurunan kinerja di subsistem budidaya tersebut juga mempengaruhi subsistem pemasaran teh Indonesia. Pangsa pasar teh Indonesia cenderung terus menurun akibat adanya kecenderungan penurunan volume ekspor teh dari tahun ke tahun. Berbagai kendala yang dihadapi oleh para produsen teh nasional nyatanya saling terkait antar subsistem. Oleh karena itu produksi metabolit sekunder *epigallocatechin gallate* (EGCG) perlu dikembangkan salah satu alternatifnya dengan teknik kultur *in vitro* melalui kultur kalus.

Kultur kalus adalah biakan dari bagian atau jaringan tanaman yang telah dipisahkan dari tanaman asalnya yang ditumbuhkan dalam keadaan steril pada suatu media buatan, dengan penambahan nutrisi sehingga sel-selnya mampu tumbuh dan mengadakan pembelahan menjadi masa sel yang tidak terdeferensiasi yang disebut kalus. Kalus adalah kumpulan sel-sel yang terbentuk dari sel-sel parenkhim yang membelah secara terus menerus dan tidak terorganisir. Di alam (*in vivo*) fenomena pembentukan kalus terjadi pada penyakit tumor tanaman yang disebabkan infeksi oleh mikroorganisme bakteri *Agrobacterium tumefaciens* pada bagian tanaman yang terluka akibat gigitan serangga atau nematoda. Kalus yang diinisiasi dan dipelihara dalam media secara *in vitro* dapat digunakan untuk tujuan mempelajari pertumbuhan dan perkembangan tanaman atau untuk mendapatkan metabolit sekunder

Kultur *in vitro* tanaman yang dipelihara di bawah kondisi lingkungan nutrisi, dan zat pengatur tumbuh yang terkontrol dijamin menghasilkan metabolit yang kontinyu (Mondal dkk., 2004). Alasan penggunaan Kultur *in vitro* yang berbentuk kalus dalam produksi metabolit sekunder *epigallocatechin gallate* diantaranya: (a) jaringan kalus tidak berbentuk, tidak terorganisasi, (b) dapat digunakan pada kegiatan kultur selanjutnya tanpa harus

menginisiasi ulang, (c) dapat disimpan pada keadaan tertentu/sesuai kebutuhan kalus tersebut misal untuk *plantlet* hingga tanaman dewasa, (d) pembelahan sel terus menerus terjadi sehingga berpotensi tinggi untuk diproduksi. Produksi senyawa EGCG pada kultur *in vitro* tercapai tertinggi pada kondisi kalus tua (umur 4 bulan) dan pada umur kalus 4 bulan ini diperoleh kadar yang tertinggi. Kondisi ini menunjukkan bahwa kultur *in vitro* mempunyai prospek untuk dikembangkan menjadi sebuah teknologi produksi EGCG (Sutini, 2009).

Penelitian ini bertujuan seperti tersebut berikut: 1) Mendapatkan kondisi pertumbuhan kalus teh untuk produksi senyawa *epigallocatechin gallate*. 2) Mendapatkan kondisi optimal untuk memperoleh konsentrasi ZPT dalam media produksi kalus secara *in vitro*. 3) Memperoleh kondisi optimal untuk produksi senyawa *epigallocatechin gallate*, kemudian mengisolasi, mengidentifikasi kalus (*in vitro*) secara kualitatif sebagai upaya untuk mendapatkan produk metabolit sekunder EGCG yang berperan untuk menunjang keberadaan zat aditif makanan-minuman fungsional yang berguna untuk meningkatkan kesehatan.

Substansi organik metabolit sekunder EGCG ini dapat diisolasi dari kultur kalus (Mulabagal dkk., 2004), dan dapat diidentifikasi menggunakan High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).

## BAHAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan yaitu: bahan jaringan pucuk daun muda dan kalus *Camellia sinensis L.*, standar EGCG, bahan kimia kultur *in vitro*: media Murashige & Skoog diantaranya: makronutrien, mikronutrien, myoinositol, Vitamin B5, dan sukrosa. 2,4-Diklorofenoksi-asetat (2,4D), kinetin, fenilalanin, asam salisilat, etanol, Na-

hypoklorit, akuades steril, larutan banlate 5%. Untuk ekstraksi: metanol, akuades, kloroform, etil asetat. Untuk HPLC: asam asetat, metanol-aqua pro injeksi (15:85).

### Alat-alat:

1. High-performance liquid chromatography (HPLC) Agilent 1100 series low pressure gradient dengan detektor Spektrofotometer UV-ST diode array, kolom RP 18 Waters  $\mu$  Bondapak 10  $\mu$ m, 3.3 x 300mm
2. Pengaduk Vortex (Vortex Mixer)
3. Ultrasonik (Julabo Labortechnik GMBH)
4. Sentrifuge (Hettich)
5. Neraca analitik *Direct Reading micro Balance* (Shimadzu), kepekaan 0,001 mg dan "Nylon membran filter" 0,2  $\mu$ m (Whatman).

## METODE PENELITIAN

1. Optimasi penumbuhan kalus pada medium MS, dengan komposisi medium MS dengan berbagai jenis ZPT dan variasi konsentrasi ZPT: NAA:K masing 0,5 ppm, 2,4-D:K masing-masing 1 ppm, NAA:2IP masing masing 0,5 ppm dan 2,4-D :BAP masing masing 0,5:1 ppm.
2. Subkultur (subkultur pertama) pada media baru.

Subkultur dilakukan dengan cara memindahkan kalus pada media baru secara aseptis diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 25 C selama 4 minggu dengan pencahayaan untuk pemeliharaan kalus dan perbanyakan eksplan sehingga mendapatkan materi yang cukup untuk analisis senyawa flavan-3-ol. Kalus yang disubkulturkan dipilih bagian yang berwarna putih kehijauan karena pada bagian tersebut sel-selnya masih aktif mengalami pembelahan. Kalus hasil subkultur diinkubasi lagi digunakan sebagai bahan ekstraksi.

### 3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan didasarkan dari dua cairan yang tidak saling campur bila

ditambahkan zat yang dapat larut dalam keduanya, maka zat tersebut akan terdistribusi dalam kedua sistem dengan perbandingan yang tetap pada temperatur tertentu. Ekstraksi dipengaruhi oleh koefisien distribusi, volume cairan dan jumlah pengulangan ekstraksi. Untuk mendapatkan *epigallocatechin gallate* ekstraksi dilakukan menurut metode Shirai *et al.*, (1994). Hasil ekstraksi yang diperoleh diamati menggunakan HPLC.

Ekstraksi kalus teh dilakukan dengan cara kalus dihaluskan kemudian ditimbang dengan teliti (kalus telah ditentukan kadar airnya dengan metode gravimetri) dan ditambah aquades panas temperatur 70-80 °C, didiamkan selama ± 30 menit. Setelah dingin disaring, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL. Ampas kalus teh dibilas dengan 10 mL air panas sebanyak 2 kali, didiamkan ± 30 menit kemudian disaring. Hasil ekstrak kedua dan ketiga dikumpulkan pada labu ukur yang sama, kemudian ditambahkan aquades sampai 50,0 mL. Larutan ekstrak teh, diambil 25,0 mL kemudian dikocok pelan dengan 25 mL kloroform dalam corong pisah maka akan terbentuk fase air. Dari fase air yang didapat, diambil sebanyak 25,0 mL kemudian diekstraksi dengan 25 mL etil asetat sebanyak 3 kali terbentuk fase etil asetat. Fase etil asetat ditampung dan diuapkan di dalam almari asam sampai kering, maka akan diperoleh ekstrak EGCG dari fraksi etil asetat. Ekstrak EGCG dilarutkan dalam 5.0 mL metanol (Karlina 2006).

#### 4. Identifikasi kalus EGCG dengan HPLC

Identifikasi *epigallocatechin gallate* kalus teh dengan High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), mekanismenya berdasarkan proses adsorpsi dan partisi, yaitu pemisahan ditentukan oleh distribusi solut dalam dua fase gerak atau ditentukan oleh kelarutan solut. Optimalisasi kondisi HPLC seperti: (1) penentuan fase gerak berdasar sifat

fisika kimia *epigallocatechin gallate* yaitu bersifat polar sehingga *epigallocatechin gallate* sangat mudah larut dalam air. Untuk itu digunakan fase gerak yang relatif polar seperti asam asetat/air (98:2 v/v) dalam reservoir A, dan asetonitril dalam reservoir B, asam asetat berguna untuk menghilangkan ekor dari peak/puncak. Fase gerak lain seperti metanol : air : asam asetat = 20 : 75 : 5 v/v/v juga dapat digunakan (Sakata *et al.*, 2001). (2) Penggunaan kolom yang relatif non polar, seperti kolom  $\mu$ bondapak C<sub>18</sub>, (3) pengukuran dengan detektor foto diode array (PDA) dengan panjang gelombang antara 200 dan 500 nm, karena biasanya *Epigallocatechin gallate* panjang maksimum yang digunakan sekitar UV 280 nm. (4) Penentuan gradien elusi pada kecepatan aliran 1ml/menit pada temperatur 35°C.

Setelah kondisi optimal, sampel diinjeksikan pada HPLC sesuai kondisi pada saat optimasi sehingga diperoleh kromatogram, yang terdiri dari profil puncak-puncak komponen sampel yang disuntikkan. Dari puncak-puncak tersebut, diperoleh data waktu retensi dan tinggi puncak atau area puncak. Waktu retensi ( $t_R$ ) yaitu waktu yang diperlukan sampel mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dengan sinyal/kromatogram spesifik yang terdeteksi oleh detektor. Waktu retensi dapat digunakan untuk analisis kualitatif.

Kondisi operasional HPLC: (1) temperatur diseting 30°C, (2) panjang gelombang 274,8 nm, (3) fase gerak terdiri dari metanol: air : asam asetat = 20:75:5 (4) laju alir fase gerak 1 mL/menit. (5) Pembuatan larutan standar EGCG dengan berbagai macam konsentrasi dengan kadar 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm, kemudian masing-masing konsentrasi disuntikkan sebanyak 100  $\mu$ L pada instrumen HPLC dengan kondisi operasional yang sudah di seting, maka akan didapat kromatogram dengan waktu retensi( $t_R$ ). (6) Pembuatan larutan ekstrak kalus EGCG dalam metanol disonikasi selama 5 menit untuk

menghilangkan gas-gas yang terdapat dalam larutan agar tidak menyumbat kolom, kemudian larutan disaring dengan kertas saring Whatmann 0,2  $\mu\text{m}$ . Untuk memperjelas puncak kromatogram, pada larutan ekstrak kalus ditambahkan standar 15 ppm kemudian disuntikkan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada instrumen HPLC dengan kondisi operasional yang sudah di seting, maka akan didapat kromatogram dengan waktu retensi. Identifikasi dapat dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi standar EGCG dengan ekstrak kalus EGCG.

**HASIL dan PEMBAHASAN**

**Hasil**

Hasil optimasi respon pertumbuhan kalus dari berbagai jenis ZPT dan variasi konsentrasi ZPT: NAA:K masing 0,5 ppm, 2,4-D:K masing-masing 1 ppm, NAA:2IP masing masing 0,5 ppm dan 2,4-D :BAP masing masing 0,5:1 ppm terdapat pada Tabel 1.

Hasil Induksi kalus teh pada umur empat minggu setelah induksi, kalus terbentuk pada bagian tepi yang dipotong kemudian melebar sampai seluruh permukaan eksplan membentuk kalus semua. Hasil induksi kalus teh seperti tersebut pada Gambar 1(a-b)

Hasil subkultur kalus hasil subkultur pertama menampakkan perubahan diameter yang mudah diamati diameter kalus mencapai  $\pm 1$  cm pada umur empat minggu setelah tanam (Gambar 2)

Tabel 1. Respon pertumbuhan kalus ekplan pucuk daun dengan variasi ZPT dan konsentrasi

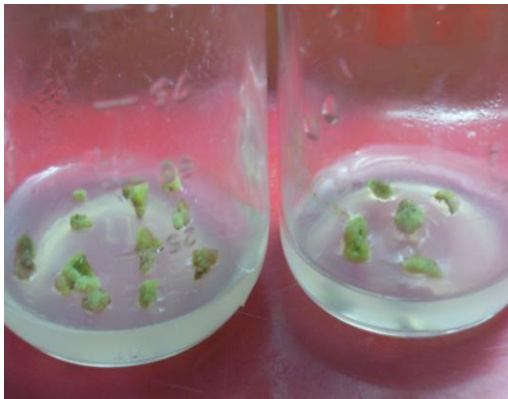
ZPT (ppm)	Respon minggu ke			
	1	2	3	4
2,4-D:K (1:1)	Hijau meng gembung	Luka tepi muncul kalus	kalus $\varnothing$ 0.1 cm	Membu suk
2,4-D:K (1:1)	Hijau meng gembung	Luka tepi muncul kalus	kalus $\varnothing$ 0.5 cm	kalus $\varnothing$ 1 cm
	Hijau pucat	Luka tepi muncul kalus		
NAA:2IP (0.5:0.5)	Hijau meng gembung	Luka tepi muncul kalus	Keco klatan	Me nge ring
2,4-D :BAP (0.5:1)			kalus $\varnothing$ 0.5 cm	kalus $\varnothing$ 0.5 cm



Gambar: 1a. kalus terbentuk pada bagian tepi yang dipotong



Gambar: 1b. Kalus melebar sampai seluruh permukaan eksplan membentuk kalus semua



Gambar 2. diameter kalus mencapai ± 1 cm pada umur empat minggu setelah tanam

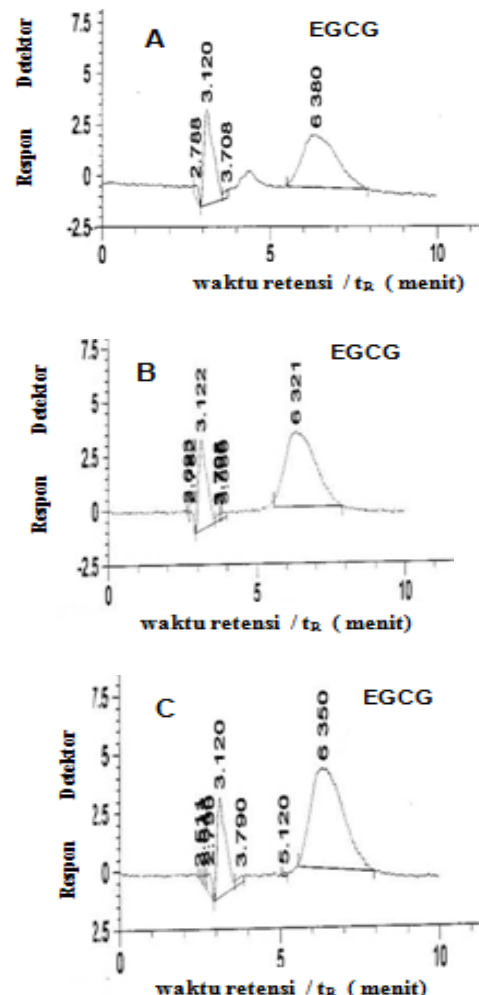
Hasil isolasi dan identifikasi kalus EGCG dengan HPLC dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi ( $t_R$ ) standar EGCG, dan ekstrak kalus. Hasil identifikasi standar EGCG dapat dilihat pada Tabel 2 dan kromatogram standar EGCG dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil identifikasi ekstrak kalus EGCG dapat dilihat pada Tabel 3 dan kromatogram ekstrak kalus EGCG dapat dilihat pada Gambar 4.

Tabel 2. Waktu retensi ( $t_R$ ) standar EGCG

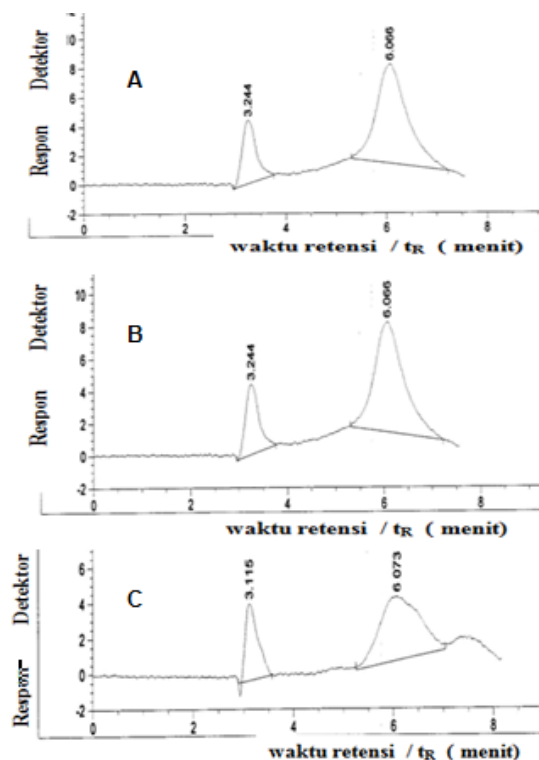
No	Konsentrasi EGCG standar	waktu retensi ( $t_R$ ) standar
1	15ppm	6.38
2	20ppm	6.32
3	25ppm	6.36
Rata-rata		6.37

Tabel 3. Waktu retensi ( $t_R$ ) ekstrak kalus EGCG

No	Konsentrasi EGCG ekstrak kalus	waktu retensi ( $t_R$ ) ekstrak kalus
1	15ppm	6.07
2	20ppm	6.06
3	25ppm	6.17
Rata-rata		6.07



Gambar 3. Kromatogram EGCG standar



Gambar 4. Kromatogram EGCG kalus yang diadisi standar EGCG 15,20,25 ppm, dengan HPLC Agilent 1100

## PEMBAHASAN

Pada Tabel 1, respon pertumbuhan kalus eksplan pucuk daun dengan variasi ZPT dan konsentrasi pada umur satu sampai umur 3 minggu pertumbuhan kalus mencapai diameter kalus  $\pm 0.1-0.5$  cm. Namun setelah umur 4 minggu pertumbuhan kalus sangat lambat bahkan kalus dari media yang ditambah ZPT 2,4-D:K (1:1) membusuk. Sedangkan media yang ditambah NAA:2IP (0.5:0.5) mengering. Selanjutnya eksplan dipilih dari pucuk daun dengan medium MS ditambah dengan 2,4-D 1 ppm + Kinetin 1 ppm.

Pada Gambar 1a-b, eksplan dari pucuk daun pertumbuhan kalus ditandai dengan proses berturut-turut dari pengembangan eksplan (1a), kemunculan kalus pada tepi eksplan yang terpotong hingga mencapai ke seluruh permukaan eksplan (1b). Gambar 1a-b ini menunjukkan bahwa

jaringan parut/kalus terbentuk dari respon perlindungan tanaman untuk memperbaiki jaringan yang terluka. Data ini relevan dengan pendapat Evans *et al.*, (2003) ketika jaringan tanaman dilukai kemudian ditempatkan diatas media padat, kalus akan terbentuk pada permukaan organ yang terpotong untuk merespon/melindungi sebagai respon perlindungan tanaman untuk memperbaiki jaringan yang rusak.

Pada Gambar 2, kalus mulai terbentuk dengan terjadi diferensiasi sel ditandai dengan perkembangan kalus. Relevan dengan penelitian Aoshima, Y. (2005) penggunaan eksplan dari kecambah pucuk daun teh dapat meningkatkan deferensiasi kalus hingga mencapai 43%.

Menurut Evans *et al.*, (2003), induksi kalus diawali dengan menempatkan eksplan pada media kultur padat secara aseptis, kemudian berproliferasi mulai dari permukaan yang terluka/terpotong melebar ke seluruh permukaan kalus.

Menurut peneliti apabila kalus sudah mulai berproliferasi dengan luas  $\pm 1-2$  cm sebaiknya segera dilakukan perbanyakan/sub kultur untuk mendapatkan masa yang lebih banyak, menghindari kontaminasi dan kematian sel (Sutini, 2010).

Perbanyakan kalus pada media baru disebut subkultur. Kalus hasil subkultur pertama setelah umur empat minggu terlihat diameter kalus mencapai  $\pm 1$  cm. Pada umur 12 minggu terlihat kalus tumbuh dengan diameter kalus mencapai  $\pm 2$  cm (Gambar 18).

Pada Tabel 2, diperoleh data bahwa waktu retensi ( $t_R$ ) EGCG standar antara 6.32-6.38 sehingga rata-rata diperoleh 6.37, data ini diperkuat dengan Gambar 3.

Pada Tabel 3 diperoleh data bahwa waktu retensi ( $t_R$ ) ekstrak kalus EGCG rata-rata 6.07, data ini terdapat perbedaan 0.30 dari standar, hal ini dikarenakan kalus selain mengandung EGCG diduga terdapat senyawa lain

sehingga waktu retensi terdapat perbedaan yang kurang bermakna.

Pada Tabel 2 & 3, diperoleh informasi bahwa waktu retensi ( $t_R$ ) dari standar EGCG, ekstrak kalus pada kisaran 6, hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak kalus mengandung EGCG. Hasil analisa kualitatif kromatogram ekstrak daun teh yang disuntikkan pada HPLC dengan kolom  $\mu$  bodapak  $C_{18}$ , dengan fase gerak metanol : air : asam asetat = 20 : 75 : 5 v/v/v, terlihat ada beberapa puncak dengan ( $t_R$ ) yang berbeda. Puncak kromatogram yang sesuai dengan standar EGCG yaitu 6.60 menit. Kromatogram dengan puncak 6.60 menit ini menunjukkan bahwa ekstrak daun teh mengandung EGCG (Sutini, 2010).

Hasil penelitian menunjukkan waktu retensi ( $t_R$ ) dari standar EGCG, ekstrak kalus, ekstrak daun the pada kisaran 6, yang sama dengan pada ekstrak daun the maka kalus mengandung EGCG

Senyawa metabolit sekunder EGCG yang terkandung dalam daun the dan ekstrak kalus dapat sebagai zat aditif makanan-minuman fungsional yang berguna untuk meningkatkan kesehatan. Seperti yang ditulis oleh Nurunisa 2011, manfaat yang dapat diperoleh dari meminum teh secara teratur diantaranya adalah dapat menurunkan munculnya risikopenyakit kanker dan radiovaskular, menurunkan berat badan, mencegah osteoporosis dan merupakan sumber mineral dan vitamin. Sangat dianjurkan meminum teh secara teratur sebanyak 4-5 kali sehari, masing-masing 100 ml untuk dapat memperoleh manfaat dari senyawa yang terkandung dalam the.

Lesschaeve I. dan Noble C. 2005, dalam penelitiannya menyebutkan bahwa senyawa EGCG pada the/ coklat murni dapat digunakan sebagai senyawa aditif pada makanan/minuman terkait dengan sifat adstringen/kekelatan dan rasa kepahitan, tetapi untuk masing-masing

orang tingkat preferensi kekelatan dan rasa kepahitan senyawa EGCG bervariasi.

Sebagai minuman fungsional dosis oral sehari untuk menurunkan kolesterol bervariasi adalah antara 1-10 cangkir. Untuk orang Asia dosis yang umum dikonsumsi sebanyak 3 cangkir per hari the yang setara dengan 90 mg EGCG (A. Qasheesh, 2004)

### KESIMPULAN

Diperoleh waktu retensi standar EGCG dan ekstrak kalus antara 6.07- 6.37, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kalus mengandung EGCG.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada: 1. DP2M Ditjen Dikti telah mendanai Hibah bersaing ini TH 2006/2009. 2. Laboratorium F. Farmasi Unair. 3. Laboratorium F.Pertanian Unibraw.

### DAFTAR PUSTAKA

- A. Qasheesh, M.M.2004. Herbs used for treatment of obesity. College of Pharmacy Department of Pharmacognosy. King Saud University: 50-61.
- Caffin, N., B. D'Arcy, L. Yao, and G. Rintoul. 2004. Developing an index of quality for Australian tea, Rural Industries Research and Development Corporation, <http://www.rirdc.gov.au>.
- Evans, D.E., J.O.D. Coleman, and A. Kearns. 2003. Plant Cell Culture, Bio Scientific Publishers, New York.
- Julian. 2008. Peran jakarta Tea Auction belum Optimal, Agro Indonesia. 2-8 September 2008. P. 21.
- Karlina 2006. Penetapan Kadar Epigallocatechin Gallate (EGCG) Dalam Daun Teh Dengan Metode KCKT, Skripsi Fakultas Farmasi Unair. Surabaya
- KementrianPertanianRepublikIndonesia. 2010. Rencana Strategis KementrianPertanian 2010-



2014. Kementrian Pertanian Republik Indonesia.
- Lesschaeve I. dan Noble C. 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences.
- Marais, J.P.J., B.E. Deavours, R.A. Dixon, and D. Ferreira. 2007. **The** stereochemistry of flavonoids. In *The Science of Flavonoids* (ed), E. Grotewold, Springer, in press. Ohio. p. 1-47.
- Mondal TK, A. Bhattacharya, M. Laxmikumar, P.S. Ahuja. 2004. Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76: 195–254.
- Mulabagal V, C. Lee, S. Lo, M.N. Satish, Y. L. Chien, and H. Tsa. 2004. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures, *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 45:1-22.  
<http://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2004/1/bot45101.pdf#search=%22elicitation%20review%20plant%20camellia%20sinensis%2Bpdf%22>.
- Murphy Coman Marjorie. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents *Clinical*, 12 (4): 564-582.
- Nurunisa, V. A. 2011. *Dayasaing dan Strategi Pengembangan Agribisnis Teh Indonesia*. Skripsi Fakultas Ekonomi dan Manajemen Institut Pertanian Bogor.
- Rahardjo dan Hermani. 2005. *Tanaman Berkasiat Anti Oksidan*, Penebar Swadaya. Jakarta. p.82.
- Sakata, I., M. Ikeuchi, I. Maruyama. and T.Okuda. 2001. Quantitative Analysis of (-) Epigallocatechin Gallate in Tea Leaves by High-Performance Liquid Chromatography, *Yakugaku Zasshi*, 111 (12) : 790-793.
- Sutini, 2009. Studi pembentukan kultur kalus *Camellia sinensis* L dan deteksi kandungan *Epigallocatechin gallate*-nya. *Journal of Biological Research*. Unair. Surabaya.
- Sutini, 2010. *Produksi Epigallocatechin Gallate Melalui Kalus Camellia Sinensis L, Dengan Induksi Elisitor, Cu<sup>2+</sup>, Asam Salisilat Dan Prekursor Fenilalanin*. Disertasi. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Shirai, T., Sato. A., and Hara Y. 1994. Epigallocatechin gallate: the Major Causative Agent of Green Tea- Induced Asthma, *Chest*. 106 (18): 01-05. *J. American Society for Clinical Nutrition*: 330S–5S.