

Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L. Kuntz) dengan Penambahan Vitamin C atau Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidannya

(Formulation of Lozenges Containing Green Tea Extract (*Camellia sinensis* L. Kuntz) with Addition of Vitamin C or Grape Seed Extract (*Vitis vinifera* L.) and Their Antioxidant Activities)

SWASONO R. TAMAT^{1*}, LEONARDUS B.S. KARDONO^{1,2}, DEWITA AGUS³

¹Program Magister Ilmu Kefarmasian, Universitas Pancasila, Jakarta.

²Pusat Penelitian Kimia LIPI, Puspiptek, Serpong, Tangerang.

³R&D Manager PT. Mustika Ratu, Tbk. Jakarta.

Diterima 15 Juli 2009, Disetujui 3 September 2010

Abstrak: Telah dilakukan formulasi tablet hisap dengan bahan aktif utama: A) ekstrak teh hijau; B) ekstrak teh hijau dan natrium askorbat; C) ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur. Aktivitas antioksidan tablet hisap dibandingkan dengan aktivitas bahan baku aktif. Tablet hisap diuji karakteristik fisik, uji kesukaan (nilai hedonik), uji disolusi, dan uji stabilitas dalam penyimpanan. Uji karakteristik fisik menunjukkan bahwa tablet hisap memenuhi ketentuan-ketentuan Farmakope Indonesia IV. Penetapan aktivitas antioksidan tablet hisap dengan metode DPPH memberikan nilai IC_{50} formula A, B, dan C masing-masing adalah 844,04 $\mu\text{g/mL}$, 221,80 $\mu\text{g/mL}$, dan C 57,4 $\mu\text{g/mL}$, sementara nilai IC_{50} ekstrak teh hijau, natrium askorbat, dan ekstrak biji anggur masing-masing adalah 4,29 $\mu\text{g/mL}$, 12,95 $\mu\text{g/mL}$, dan 1,96 $\mu\text{g/mL}$. Pengujian stabilitas dipercepat dilakukan berdasar kadar EGCG dengan KCKT yang kemudian dihitung menggunakan persamaan Arrhenius menunjukkan bahwa waktu simpan formula A, B, dan C masing-masing adalah 2,11 tahun; 1,87 tahun dan 2,73 tahun. Hasil menunjukkan bahwa tablet hisap mengandung ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur (formula C) adalah tablet hisap yang terbaik berdasarkan ketentuan FI IV, aktivitas antioksidannya, dan stabilitasnya dalam penyimpanan.

Kata kunci: ekstrak teh hijau, ekstrak biji anggur, vitamin C, aktivitas antioksidan, tablet hisap.

Abstract: Formulation of lozenges containing: A) green tea extract; B) green tea extract with sodium ascorbate; and C) green tea extract with grape seed extract have been carried out. Antioxidant activities were compared to the activity of raw active materials. Lozenges were tested for physical characteristics, hedonic values, dissolution rate, and stability during storage. Physical tests indicated that the lozenges comply with the Farmakope Indonesia IV requirements. Determination of IC_{50} antioxidant activity using DPPH free radical scavenger showed that IC_{50} of formula A, B, and C were 844.04 $\mu\text{g/mL}$, 221.80 $\mu\text{g/mL}$, and C 57.4 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Meanwhile, IC_{50} value of green tea extract, sodium ascorbate, and grape seed extract were 4.29 $\mu\text{g/mL}$, 12.95 $\mu\text{g/mL}$, and 1.96 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Accelerated stability test were carried out based on the EGCG concentration observed by using HPLC and then calculated by Arrhenius equation showed that the shelf life of lozenges of formula A, B, and C were 2.11 years; 1.87 years; and 2.73 years, respectively. The result showed that the lozenge containing green tea extract and grape seed extract (formula C) is the best formula based on FI IV requirements, antioxidant activity and lozenges stability.

Keywords: green tea extract, grape seed extract, vitamin C, antioxidant activity, lozenges.

* Penulis korespondensi, HP: 08129695600
e-mail: swasonotamat@gmail.com

PENDAHULUAN

TEH merupakan salah satu tanaman yang terus dikembangkan hingga saat ini, karena khasiatnya yang dipercaya sangat baik bagi kesehatan tubuh. Komoditas teh dihasilkan dari pucuk daun tanaman teh (*Camellia sinensis* L. Kuntz) melalui proses pengolahan tertentu^(1,2).

Seiring perkembangan teknologi sediaan dan kebutuhan akan kepraktisan dalam konsumsi suatu bahan (obat) untuk efek tertentu, dalam industri nutrasetikal dan kesehatan dikembangkan berbagai produk menjadi *natural organic food*, suplemen makanan, *natural cosmetics* dan *functional food* dalam berbagai bentuk kemasan dan bentuk sediaan. Distribusi produk alami di pasar global pada 2003, yang tertinggi adalah sebagai *functional food* 38%, diikuti oleh *dietary supplement* 34%⁽³⁾.

Pada 2003, pertumbuhan industri *nutraceutical* global bagi produk suplemen makanan adalah 5,9% (dengan nilai penjualan US\$60,190 juta) dan produk *functional food* 9,1% (penjualan US\$66,530)⁽²⁾. Ekstrak bahan alam yang paling diminati adalah Ekstrak Kacang Kedelai di urutan pertama, diikuti Ekstrak Teh Hijau, Ekstrak Akar Manis pada urutan kedua dan ketiga, dan Ekstrak Biji Anggur pada urutan ke-10⁽²⁾.

Beberapa penelitian membuktikan bahwa di dalam teh hijau terkandung senyawa polifenol-katekin yang mempunyai efek antioksidan^(1,2). Adanya kandungan senyawa katekin dalam teh hijau diketahui mempunyai potensi fisiologis yang besar dalam penanganan berbagai penyakit⁽¹⁾.

Sediaan teh hijau yang ada sekarang ini antara lain adalah permen Green Tea (PT Agel Langgeng-Group Kapal Api), minuman *ready to drink* (RTD) Nu Green Tea [PT ABC President], RTD C2 [PT URC Indonesia], RTD Fres Tea [PT Coca Cola], dan Joy Tea [PT Sinar Sosro]. Sediaan tersebut umumnya dalam bentuk tunggal, hanya mengandung ekstrak teh hijau^(1,2).

Penelitian ini bertujuan melakukan inovasi produk yang lebih praktis dibawa dan dikonsumsi, serta dikombinasi dengan bahan lainnya yang belum dipublikasikan, yang searah dengan efek antioksidannya, seperti ekstrak biji anggur (ungu/biru), sehingga diharapkan memberikan efek yang lebih baik.

Pada penelitian ini dilakukan formulasi tablet hisap yang mengandung ekstrak teh hijau dan aktivitas antioksidannya dibandingkan dengan tablet hisap yang mengandung kombinasi ekstrak teh hijau dan vitamin C, atau ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur, serta dibandingkan dengan produk komersial yang ada. Formulasi tablet hisap ekstrak teh hijau dievaluasi juga dengan membandingkan kadar senyawa polifenol total dan parameter fisiknya. Kombinasi ekstrak teh

hijau dengan ekstrak biji anggur dalam tablet hisap diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Secara umum ekstrak selalu mempunyai sifat higroskopis, karena itu perlu formulasi yang tepat agar diperoleh sediaan yang stabil.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan adalah ekstrak Daun Teh Hijau [Natura] yang mengandung EGCG 14,97%, natrium askorbat [Jiangsu Jiangshan Pharmaceutical Co] 99,7%, ekstrak biji anggur (ungu/biru) [JF Natural] mengandung proantosianidin >95,0%, laktosa [Glanbia], sorbitol [Roquette], plasdone K29/32, natrium benzoat, asam sitrat [Cargill], flavor anggur [Frutarom], aerosil [Degussa], magnesium stearat [Wilhelm Welzien & Co.], pereaksi DPPH, pereaksi Folin Ciocalteu, pereaksi asam galat, asetonitril, metanol, alkohol 96% dan natrium karbonat semuanya dari Merck; baku pembanding primer EGCG [Sigma], Plate Count Agar [Merck], Saburoud Dextrose Agar [Merck], McConkey Agar [Britania].

Alat yang digunakan adalah timbangan digital [Shimadzu AUX 220], *hardness tester* [Pharma Test PTB 311(511)-E], *moisture balance analyzer* [Sartorius MA45], mesin cetak tablet *single punch*, pengayak [Retsch AS200], spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak [Shimadzu UV Mini-1240], kromatografi cair kinerja tinggi [Shimadzu LC-20AT], inkubator [Memmert INE 500], alat uji disolusi [Pharma Test PT DT70], friabilator dan friksibilator [Erweka].

METODE. Pemeriksaan bahan baku. Penetapan kadar total polifenol⁽⁴⁾ dalam ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur. Kadar polifenol total dalam ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur ditetapkan dengan reaksi 20 μ L larutan sampel dengan 1,58 mL air, ditambah 100 μ L pereaksi Folin Ciocalteu dan 300 μ L larutan natrium karbonat 20% b/v dalam air, diinkubasi 30 menit dan diukur serapan secara spektrofotometri pada $\lambda=765$ nm. Kadar polifenol total dihitung berdasarkan kurva kalibrasi baku pembanding asam galat⁽⁵⁾. Karena senyawa flavonoid mempunyai struktur dasar asam galat, maka asam galat digunakan sebagai baku pembanding.

Penetapan kadar EGCG (sebagai senyawa penanda) ekstrak teh hijau⁽⁶⁾. Kadar (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) sebagai senyawa penanda dalam ekstrak teh hijau dan dalam produk tablet hisap ditetapkan secara KCKT. Zat uji dan baku pembanding dilarutkan dalam pelarut asam fosfat 0,1% LP, kemudian dianalisis dengan KCKT menggunakan kolom C18, 3,5 μ m, 4,6 x 250 mm, suhu kolom 35°C, laju alir 1 mL/min, detektor UV 280 nm, volume injeksi 20 μ L, fasa gerak (gradien) asam fosfat 0,1%

-asetonitril, menit 0-12 (85:15); menit 12-20 menjadi (75:25); menit 20-22 (75:25); menit 22-30 menjadi (85:15); dan menit 30 (85:15). Waktu retensi EGCG adalah 10,8 menit.

Penetapan aktivitas antioksidan vitamin C, ekstrak teh hijau, ekstrak biji anggur. Sejumlah masing-masing bahan ekstrak ditimbang, dilarutkan dalam metanol ad 20 mL, dan diencerkan hingga diperoleh kadar 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL dan 32 µg/mL. Aktivitas antioksidan ditetapkan dengan menggunakan metode 1,1 diphenyl-1-picryl hydrazil (DPPH) radical scavenging assay^(6,7). Satu mL larutan DPPH 0,135 mM dalam metanol dicampur dengan 1 mL masing-masing larutan sampel ekstrak dalam metanol tersebut di atas. Campuran dikocok kuat pada suhu 25°C dan dibiarkan di ruang gelap selama 30 menit. Serapan masing-masing larutan diukur secara spektrofotometri pada $\lambda = 517$ nm, yaitu panjang gelombang serapan maksimum larutan kontrol DPPH dalam metanol. Aktivitas antioksidan ditunjukkan sebagai persentase peredaman (%I) terhadap aktivitas radikal DPPH dengan persamaan:

$$\%I = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{Zat uji}}{Abs_{kontrol}} \times 100$$

$Abs_{kontrol}$ adalah serapan larutan kontrol DPPH dalam metanol dan $Abs_{Zat uji}$ adalah serapan campuran hasil reaksi DPPH + sampel ekstrak atau baku pembandingan.

Nilai IC_{50} adalah nilai 50% peredaman, diperoleh dengan cara mengkonversi setiap konsentrasi zat uji menjadi log konsentrasi, sementara aktivitas antioksidannya dikonversi ke dalam satuan probit sesuai *Probit Analysis*⁽⁸⁾, kemudian nilai IC_{50} masing-masing dihitung menggunakan analisis probit berdasarkan grafik fungsi linier log konsentrasi zat uji vs nilai probit dari aktivitas antioksidan zat uji⁽⁹⁾.

Pembuatan tablet hisap dan evaluasinya. Jumlah zat aktif yang digunakan dalam formulasi ditentukan berdasarkan dosis yang disarankan dalam *Physician's Desk Reference*⁽¹⁰⁾. Formula tablet hisap dikembangkan berdasarkan formula dasar tablet hisap yang terdiri dari bahan pengisi, bahan pengikat dan bila perlu menggunakan bahan tambahan *flavor* untuk menutupi rasa yang tidak enak. Dalam formula ini dosis ekstrak teh hijau ditetapkan sebanyak 50 mg per tablet, sementara vitamin C ditetapkan sesuai dengan kebutuhan dosis Angka Kecukupan Gizi (AKG) 50 mg dan ekstrak biji anggur 50 mg. Masing-masing bahan bantu ditambahkan dengan konsentrasi mengacu pada *Handbook of Pharmaceutical Excipient*⁽⁹⁾, namun agar tablet hisap dapat dibuat dengan cara "cetak langsung", sebagai pengikat digunakan kombinasi Plasdone K29/32 dan Sorbitol.

Massa serbuk dicetak dengan mesin cetak *single punch*. Evaluasi tablet hisap dilakukan dengan pengujian yang telah baku, yaitu keseragaman ukuran, keseragaman bobot, kekerasan, kerenyahan, keseragaman kadar zat aktif, uji disolusi, uji mikrobiologi, uji kesukaan (*hedonic test*), aktivitas antioksidan- IC_{50} , dan uji stabilitas.

Uji disolusi tablet. Uji disolusi dilakukan guna memberikan kepastian pelepasan zat aktif dari tablet, terutama untuk tujuan sistemik. Uji disolusi dilakukan dengan mengacu pada DP 2005⁽¹¹⁾ dan FI IV⁽¹²⁾, yaitu disolusi untuk sediaan oral padat yang mensyaratkan kriteria penerimaan dalam 45 menit tidak kurang dari 70% zat aktif telah larut dalam pelarut.

Keseragaman kadar zat aktif dalam tablet. Untuk menjamin keseragaman produk tablet hisap, dilakukan penetapan kadar zat aktif tablet hisap, dalam hal ini kadar zat penanda EGCG dalam 10 butir tablet dari setiap *batch* produksi^(10,11). Setiap butir tablet digerus halus, dicampur homogen dan ditimbang untuk kemudian ditetapkan kadar zat penanda EGCG secara KCKT sebagaimana dilakukan pada penetapan kadar EGCG dalam ekstrak daun teh hijau.

Penetapan aktivitas antioksidan dan IC_{50} tablet hisap. Untuk penetapan aktivitas antioksidan tablet hisap^(6,7) digunakan berbagai kadar tablet hisap, yaitu tablet hisap A 10 µg/mL–1280 µg/mL, tablet hisap B 10 µg/mL–640 µg/mL, dan tablet hisap C 10 µg/mL–160 µg/mL, serta menggunakan metode DPPH, sebagaimana dilakukan untuk bahan baku aktif. Nilai IC_{50} tablet hisap juga dihitung seperti pada bahan baku aktif.

Uji stabilitas. Uji stabilitas tablet hisap menggunakan metode uji stabilitas dipercepat^(10,11,12) dilakukan pada suhu 29°C, 40°C, 50°C, 60°C dan 70°C dengan RH 75 ± 5%. Evaluasi dilakukan pada awal (0 minggu), minggu ke-1, minggu ke-2, dan setiap minggu hingga minggu ke-12, terhadap parameter kadar EGCG.

Masa simpan masing-masing tablet hisap ditetapkan dengan pengolahan data uji stabilitas menggunakan persamaan Arrhenius dan dibuat kurva log konsentrasi vs waktu sehingga diperoleh tetapan laju degradasi (k) pada setiap kondisi suhu. Selanjutnya dibuat kurva regresi linier log k vs suhu dalam satuan Kelvin (1/T) untuk mendapatkan tetapan laju degradasi pada suhu 25°C (k_{25}). Dengan diketahuinya k_{25} , maka masa simpan produk, dengan ketentuan kadar zat aktif tidak kurang dari 90% dari kadar yang tertera pada kemasan, dapat dihitung^(10,13).

Analisis data. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan aktivitas antioksidan antara kelompok kontrol dan kelompok tablet hisap A, tablet hisap B, dan tablet hisap C, dilakukan uji statistik ANOVA

satu arah (*one way ANOVA*) dan LSD. Pengolahan data uji kesukaan juga menggunakan analisis varian. Penetapan kemaknaan statistik menggunakan nilai $\alpha = 0,05$. Analisis varian (*ANOVA*) dilakukan dengan menggunakan SPSS 11.0 for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar total polifenol dalam ekstrak daun teh hijau dan ekstrak biji anggur. Kadar polifenol total yang ditetapkan dengan pereaksi Folin Ciocalteu, pengukuran serapan pada panjang gelombang serapan maksimum asam galat 765 nm, dan perhitungan dinyatakan sebagai asam galat, ditunjukkan pada Gambar 1. Kadar polifenol total dalam ekstrak teh hijau diperoleh 221 $\mu\text{g/mL}$ (atau 38,05% b/b ekstrak) dan dalam ekstrak biji anggur diperoleh 551 $\mu\text{g/mL}$ (atau 81,03% b/b ekstrak) dihitung sebagai asam galat.

Penetapan kadar EGCG (sebagai senyawa penanda) dalam ekstrak teh hijau. Kadar (-)-*epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) dalam ekstrak teh hijau ditetapkan secara KCKT. Kurva kalibrasi senyawa EGCG ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi EGCG (5 sampai 100 bpj) dan area di bawah kurva, dengan $R^2 = 0,999$.

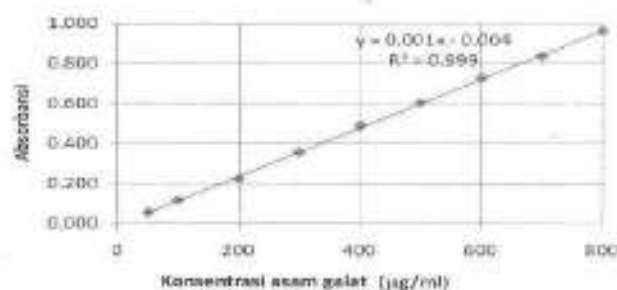
Perhitungan kadar EGCG dalam ekstrak dan sediaan tablet hisap ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi dengan persamaan korelasi regresi linier, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 2. Pemeriksaan Gambar 3 menunjukkan bahwa kromatogram ekstrak teh hijau mengandung beberapa senyawa, antara lain senyawa EGCG dengan waktu retensi yang sama dengan baku pembandingan EGCG yang memberikan puncak serapan pada waktu retensi 10,8 menit.

Penetapan aktivitas antioksidan bahan baku. Pemeriksaan aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH, yaitu 517 nm⁶¹. Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan

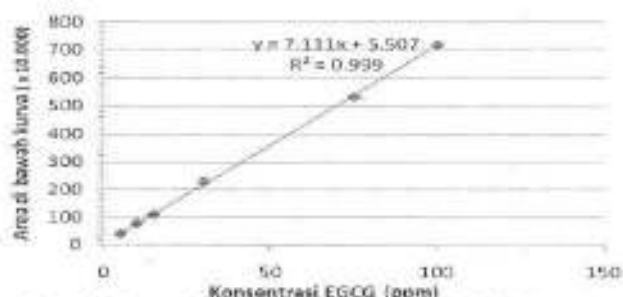
natrium askorbat, ekstrak teh hijau dan biji anggur pada berbagai konsentrasi tertera pada Gambar 4.

Penetapan aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa pada konsentrasi larutan bahan aktif yang sama, misalnya pada 8 $\mu\text{g/mL}$, larutan ekstrak biji anggur memberikan inhibisi tertinggi, yaitu 89,81%, diikuti ekstrak teh hijau sebesar 87,59% dan terendah natrium askorbat 18,06%.

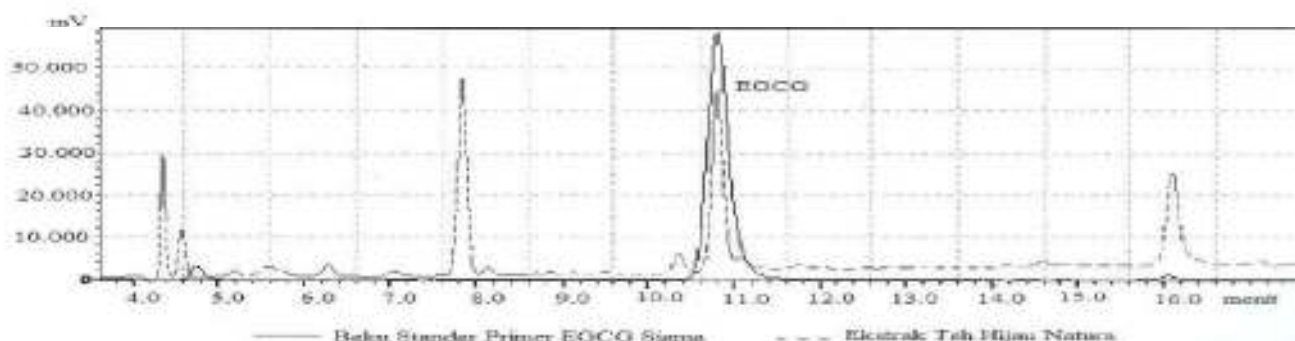
Uji beda nyata pada nilai % inhibisi dari konsentrasi 1–8 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan



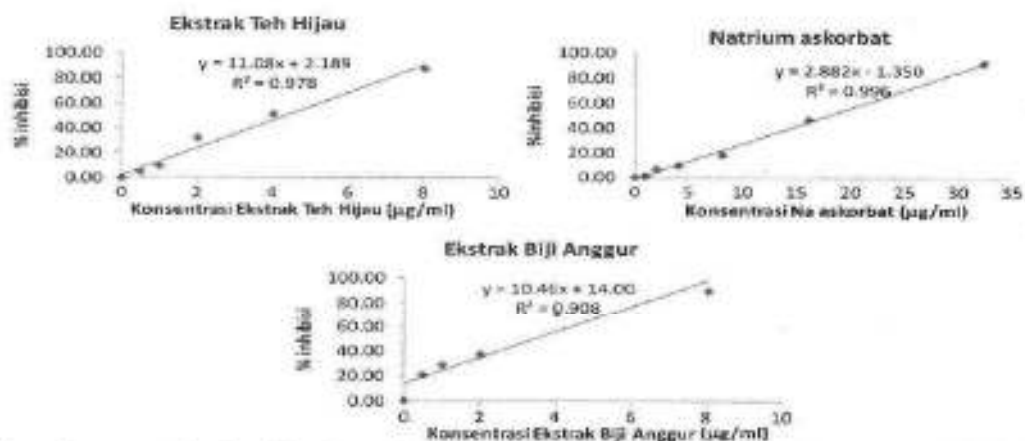
Gambar 1. Kurva kalibrasi polifenol total (50 $\mu\text{g/mL}$ –800 $\mu\text{g/mL}$) sebagai asam galat.



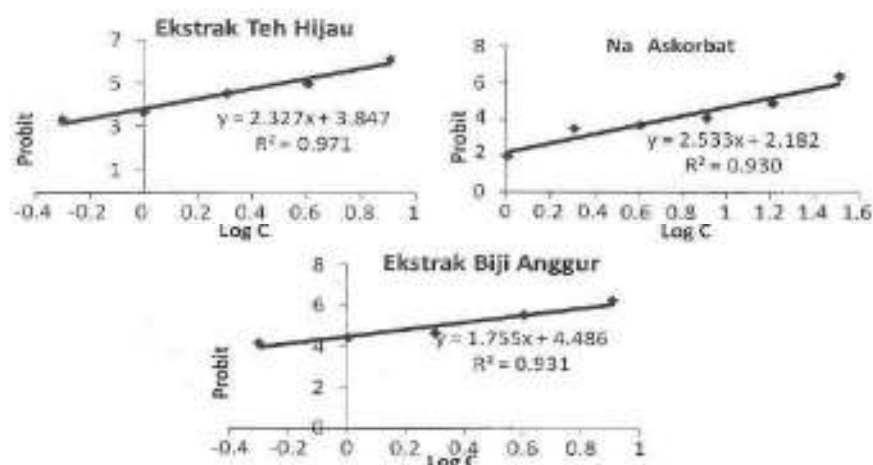
Gambar 2. Kurva kalibrasi konsentrasi EGCG (ppm) vs area serapan pada 280 nm.



Gambar 3. Profil kromatogram HPLC ekstrak daun teh hijau vs baku pembandingan EGCG (Rt 10,8 menit).



Gambar 4. Kurva konsentrasi bahan baku ekstrak teh hijau, Na-askorbat dan ekstrak biji anggur vs % inhibisi pada DPPH.



Gambar 5. Kurva log konsentrasi vs probit % inhibisi ekstrak daun teh hijau, natrium askorbat, dan ekstrak biji anggur.

yang signifikan antarkelompok, di mana F hitung < F tabel (F hitung = 3,82), dengan nilai signifikansi 6,3%. Uji *multiple comparison* (LSD) menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara inhibisi ekstrak biji anggur dan inhibisi natrium askorbat, tetapi tidak signifikan antara inhibisi ekstrak biji anggur dan ekstrak teh hijau (nilai signifikansi masing-masing 2,7%).

Inhibitory Concentration (IC_{50}) natrium askorbat, ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur dihitung berdasarkan analisis probit (Gambar 5), menghasilkan nilai IC_{50} ekstrak daun teh hijau, natrium askorbat dan ekstrak biji anggur berturut-turut adalah 4,29 $\mu\text{g/mL}$; 12,95 $\mu\text{g/mL}$ dan 1,96 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak biji anggur mempunyai nilai IC_{50} terkecil, dan hal ini menunjukkan bahwa secara nominal dari ketiga bahan aktif, ekstrak biji anggur mempunyai aktivitas antioksidan yang tertinggi.

Tablet hisap dan evaluasinya. Formula tablet hisap yang dibuat dalam penelitian ini tertera pada Tabel 1, formula A1 dan A2 mengandung ekstrak teh hijau saja, formula B1 dan B2 mengandung ekstrak teh hijau dan natrium askorbat, formula C1 dan C2 mengandung ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur.

Pemeriksaan pada parameter fisika, uji kesukaan, dan uji mikrobiologis secara umum tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara formula 1 dan formula 2 pada tablet A, tablet B maupun tablet C (Tabel 2), karena itu untuk selanjutnya evaluasi pemeriksaan hanya dilakukan terhadap satu formula saja, yaitu A1, B1 dan C1.

Uji disolusi⁽¹⁶⁾. Kecepatan rotasi untuk uji tablet hisap belum ada ketentuan khusus⁽¹⁵⁾. Bila uji dilakukan dengan kecepatan rotasi untuk tablet biasa 50 rpm, akan dihasilkan waktu disolusi hingga 6 jam. Uji tablet hisap

Tabel 1. Formula tablet hisap @ 1800 mg.

No	Bahan Baku	Formula					
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
		Prosentase Bahan (%)					
1	Ekstrak Teh Hijau	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78
2	Na Askorbat	-	3,13	-	-	3,13	-
3	Ekstrak Biji Anggur	-	-	2,78	-	-	2,78
4	Laktosa	3,83	0,00	0,35	3,83	0,00	0,35
5	Sorbitol	89,14	89,14	89,14	89,14	89,14	89,14
6	Plasdone K 29/32	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
7	Sodium benzoat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
8	Asam sitrat	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
9	Flavour	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60
10	Magnesium stearat	1,00	1,00	1,00	0,50	0,50	0,50
11	Aerosil	0,50	0,50	0,50	1,00	1,00	1,00
		100,00	100,0	100,00	100,00	100,00	100,00

Tabel 2. Rekapitulasi karakteristik sifat fisika, kimia, dan mikrobiologi tablet hisap.

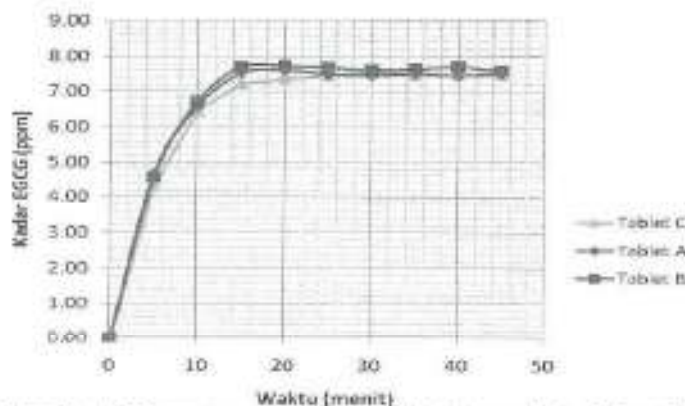
Parameter	Satuan	Hasil Pengamatan					
		A1	A2	B1	B2	C1	C2
Bobot	g	1,80	1,76	1,81	1,78	1,81	1,8
Kadar Air	%	0,73	0,7	0,83	0,79	0,99	0,96
Warna	-	coklat muda	coklat muda	coklat muda	coklat muda	coklat muda	coklat muda
Aroma	-	Anggur	Anggur	Anggur	Anggur	Anggur	Anggur
Waktu disolusi	menit	19,3	20,61	24,17	25,34	23,25	23,52
Ketebalan	mm	6,61	6,58	6,57	6,72	6,77	6,74
Kekerasan	Kg/inch ²	45,52	45,58	43,41	43,26	45,60	45,57
Friksibilitas	%	0,46	0,44	0,56	0,57	0,51	0,52
Friabilitas	%	0,09	0,10	0,12	0,13	0,10	0,10
Cemaran mikroba							
TPC	cfu/g	2,10. 10 ¹	4,10. 10 ¹	3,20. 10 ¹	3,50. 10 ¹	2,40. 10 ¹	4,30. 10 ¹
TKK	cfu/g	3,00. 10 ⁰	4,00. 10 ⁰	2,00. 10 ⁰	1,00. 10 ⁰	5,00. 10 ⁰	4,00. 10 ⁰
Kadar EGCG	mg/tablet	7,52	7,52	7,51	7,52	7,57	7,56
Kadar Polifenol	%b/b	1,18	1,23	1,26	1,24	3,99	3,97

dengan metode demikian, jelas tidak sesuai karena saat tablet hisap dikonsumsi diawali proses "erosi" dalam mulut, sehingga menyebabkan percepatan proses pengikisan tablet dan pelarutan/ pelepasan zat aktif. Karena itu, dalam percobaan ini dilakukan pengaturan kecepatan menjadi 250 rpm. Hasil pengamatan uji disolusi tertera pada Gambar 8.

Ekstrak teh hijau yang ada dalam setiap formula diketahui 50 mg/tablet (ekivalen dengan EGCG 14,95%),

atau kadar EGCG sekitar 7,475 mg/tablet, sehingga dapat dihitung bahwa 70% kadar EGCG adalah 5,67 mg-5,96 mg. Dengan demikian, Gambar 8 menunjukkan bahwa 70 % EGCG telah larut sebelum menit ke-10 (rerata hasil uji disolusi 6 tablet tiap formula).

Penetapan kadar polifenol total tablet hisap. Penetapan kadar polifenol total dalam tablet hisap dilakukan dengan metode Folin Ciocalteu. Dengan menggunakan kurva kalibrasi kadar polifenol total (50



Gambar 8. Kurva profil disolusi tablet formula A, B dan C.

µg/ml-800 µg/ml) pada Gambar 1, dapat ditunjukkan bahwa kadar rerata polifenol total dalam tablet A, B dan C berturut-turut adalah 1,205%, 1,25% dan 3,98%. Kadar polifenol total tablet C tertinggi karena senyawa polifenol terkandung dalam ekstrak teh hijau maupun ekstrak biji anggur.

Keseragaman kandungan EGCG dalam tablet.
Evaluasi keseragaman tablet berdasarkan kandungan EGCG dilakukan terhadap 20 butir masing-masing tablet A, B dan C. Hasil penetapan kadar EGCG dalam tablet hisap menunjukkan keseragaman kadar rerata sebagai berikut: tablet A mengandung 7,54 mg EGCG/tablet (maks 7,68 mg; min 7,46mg), tablet B 7,52 mg EGCG/tablet (maks 7,67 mg; min 7,33mg), dan tablet C 7,56 mg EGCG /tablet (maks 7,69 mg; min 7,39 mg).

Penetapan aktivitas antioksidan tablet hisap.
Penetapan aktivitas antioksidan pada tablet hisap A (10 µg/mL-1280 µg/mL), tablet hisap B (10 µg/mL-640 µg/mL), dan tablet hisap C (10 µg/mL-160 µg/mL),

menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diberikan oleh tablet C, diikuti oleh tablet B dan tablet A (Gambar 9). Pada konsentrasi larutan sampel tablet hisap A, B, dan C sebesar 80 µg/mL, masing-masing memberikan % inhibisi DPPH berturut-turut sebesar 6,93%; 16,97% dan 52,45%. Aktivitas antioksidan tablet C tertinggi sesuai dengan hasil penetapan kadar polifenol total sebelumnya.

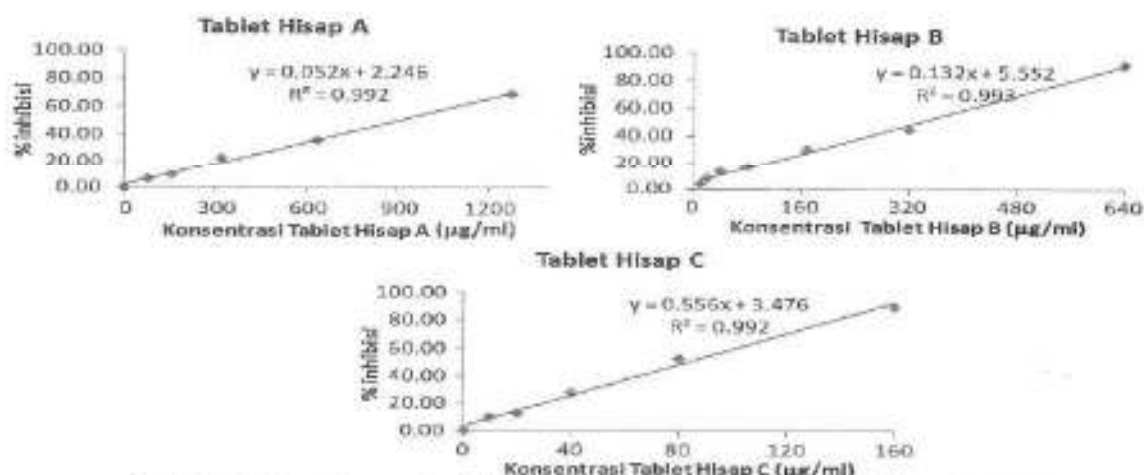
Analisis probit atas aktivitas antioksidan masing-masing tablet hisap menghasilkan nilai IC_{50} tablet hisap A, tablet B, dan tablet C sebesar 844,04 µg/mL, 221,80 µg/mL, dan 57,41 µg/mL sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 10.

Analisis Anova pada nilai persen inhibisi dari tablet A, B, dan C pada konsentrasi 40-320 µg/ml (nilai persen inhibisi formula C pada konsentrasi 320 µg/ml dihitung berdasarkan persamaan regresi), menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok A, B, dan C. Uji *multiple comparison* (LSD) menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara tablet hisap A dan tablet hisap C, dan tidak signifikan antara tablet hisap A dan B, dan tablet hisap B dan C.

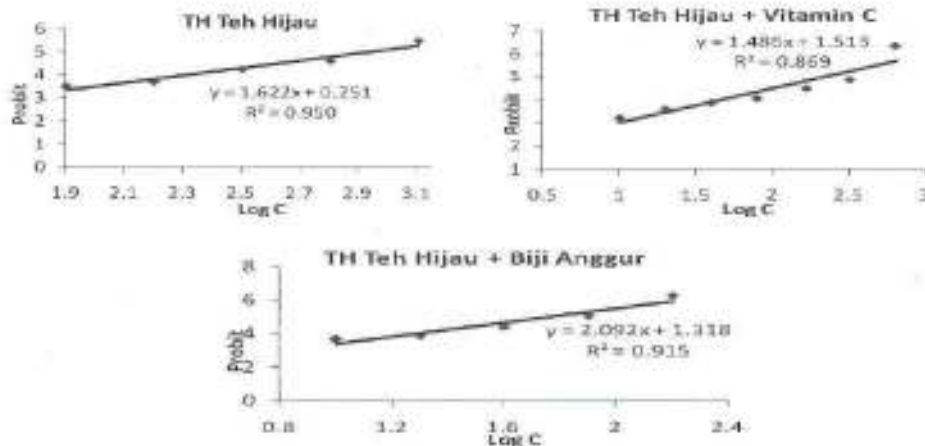
Dengan demikian, tablet hisap C memiliki daya inhibisi yang lebih besar secara signifikan ($p < 0.05$) terhadap tablet hisap A dan tidak signifikan ($p > 0.05$) terhadap tablet hisap B.

Uji stabilitas dan penetapan masa simpan tablet hisap. Pengujian stabilitas tablet hisap dilakukan menggunakan petunjuk kadar EGCG dalam tablet hisap dengan pertimbangan bahwa kandungan EGCG hanya berasal dari Ekstrak Teh Hijau, sehingga profil degradasi zat aktif antara formula A, formula B dan formula C dapat dibandingkan.

Secara umum suatu produk dinyatakan sudah tidak memenuhi syarat bila kandungan zat aktif (penanda)



Gambar 9. Kurva konsentrasi tablet hisap A, B dan C vs % inhibisi pada DPPH.



Gambar 10. Kurva log konsentrasi Tablet Hisap A, B dan C vs probit % inhibisi.

Keterangan:

Tablet Hisap A: bahan aktif 50 mg ekstrak Daun Teh Hijau/tablet

Tablet Hisap B: bahan aktif 50 mg ekstrak Daun Teh Hijau + 56 mg Na-askorbat/tablet

Tablet Hisap C: bahan aktif 50 mg ekstrak Daun Teh Hijau + 50 mg ekstrak biji anggur/tablet.

sudah menurun hingga kurang dari 90%⁽¹²⁾.

Perhitungan waktu yang dibutuhkan agar konsentrasi bahan aktif tinggal 90% pada penyimpanan 25°C, diawali dengan menghitung laju degradasi EGCG pada berbagai suhu penyimpanan (Tabel 3 dan Gambar 11). Selanjutnya dengan persamaan $y = -0,00118x - 1,28347$ dihitung log k pada suhu 25°C, sehingga diperoleh hasil log $k_{25} = -5,24355$ dan $k_{25} = 5,707 \cdot 10^{-5}$.

Kemudian dengan menggunakan persamaan Arrhenius:

$$T_{50-A} - t_{90\%} = \frac{2,303}{k_{250C}} \log \frac{C_0}{C}$$

T adalah waktu (jam), k_{250C} adalah laju degradasi spesifik pada suhu kamar 25°C, C_0 adalah konsentrasi zat penanda awal (tertera di kemasan), C adalah batas konsentrasi zat penanda yang masih dapat diterima dari yang dipersyaratkan. Selanjutnya dibuat plot log konsentrasi terhadap waktu penyimpanan, sehingga diperoleh persamaan regresi linier dengan tetapan laju

Tabel 3. Hasil perhitungan persamaan regresi, dan laju degradasi pada berbagai suhu.

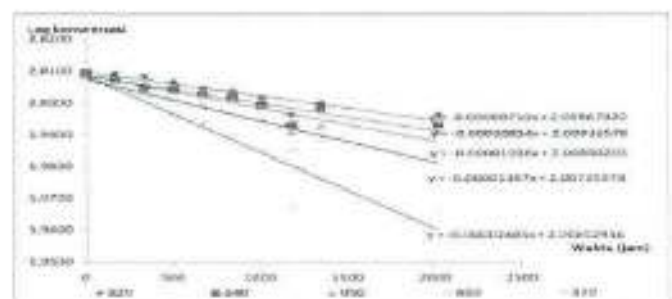
Suhu (°C)	k ($\times 10^{-5}$)	log k	T (K)	1/T ($\times 10^3$)
29	0,77	-5,12	302	3311
40	0,85	-5,07	313	3195
50	1,04	-4,98	323	3096
60	1,31	-4,88	333	3003
70	2,41	-4,62	343	2915

degradasi k (Gambar 12).

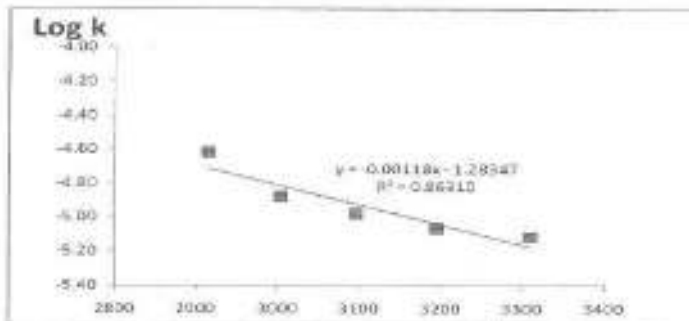
Dengan nilai $C = 90\%$, dan $C_0 = 100\%$, maka diperoleh nilai $t_{90\%}$ adalah 18,463 jam atau 2,108 tahun. Dengan demikian, tablet hisap A dinyatakan stabil selama 2,108 tahun.

Dengan cara yang sama seperti tersebut di atas, diperoleh bahwa tablet hisap B dinilai stabil selama $t_{90\%B} = 16,371$ jam atau 1,869 tahun. Sedangkan formula C dinilai stabil selama $t_{90\%C} = 23,943$ jam atau 2,733 tahun.

Mengamati data uji stabilitas dan hasil penetapan IC_{50} tablet formula A, B dan C, dapat dilihat bahwa Tablet C mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dan masa simpan terpanjang. Tablet B, walau mempunyai aktivitas antioksidan yang relatif lebih tinggi daripada Tablet A, ternyata mempunyai masa simpan yang lebih pendek. Hal ini karena stabilitas natrium askorbat lebih rendah daripada ekstrak teh hijau, sehingga walaupun digunakan secara bersamaan dengan ekstrak



Gambar 11. Kurva hubungan antara log konsentrasi tablet hisap A terhadap waktu penyimpanan (jam).



Gambar 12. Kurva korelasi log k terhadap suhu penyimpanan tablet hisap A.

teh hijau, ketidakstabilan natrium askorbat tersebut mempengaruhi stabilitas tablet hisap.

Penetapan Inhibitory Concentration (IC_{50}) tablet hisap X dan Y. Hasil pemeriksaan terhadap dua sediaan tablet hisap X dan tablet hisap Y yang ada di pasaran secara berurutan menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC_{50} tablet hisap X sebesar $72,55 \mu\text{g/mL}$ dan tablet hisap Y sebesar $68,13 \mu\text{g/mL}$ (Gambar 13).

Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa tablet C yang mengandung 50 mg ekstrak teh hijau dan 50 mg ekstrak biji anggur mempunyai aktivitas antioksidan yang sedikit lebih baik (walaupun tidak berbeda nyata) dibanding sediaan tablet hisap yang ada di pasaran, yang mengandung bahan aktif sintetik setara 500 mg vitamin C.

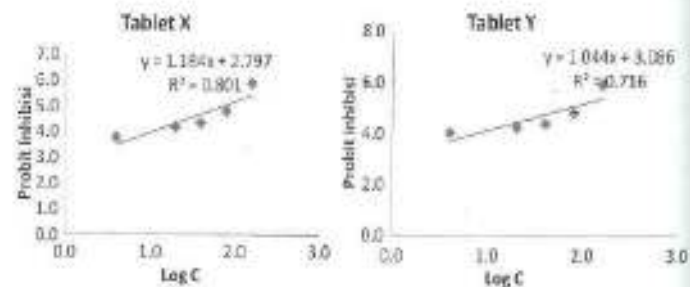
SIMPULAN

Aktivitas antioksidan bahan baku tertinggi diberikan oleh ekstrak biji anggur ($IC_{50} 1,96 \mu\text{g/mL}$), diikuti ekstrak teh hijau ($IC_{50} 4,293 \mu\text{g/mL}$) dan vitamin C ($IC_{50} 12,95 \mu\text{g/mL}$).

Aktivitas antioksidan tablet hisap berisi ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur ($IC_{50} 57,41 \mu\text{g/mL}$) lebih tinggi dari pada tablet hisap berisi ekstrak teh hijau dan vitamin C ($IC_{50} 221,80 \mu\text{g/mL}$) maupun tablet hisap yang berisi ekstrak teh hijau saja ($IC_{50} 844,04 \mu\text{g/mL}$).

Dibandingkan tablet hisap antioksidan X dan Y yang ada di pasaran, tablet hisap C yang berisi ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur memberikan aktivitas antioksidan yang relatif lebih baik ($IC_{50} 57,41 \mu\text{g/mL}$), tablet X ($IC_{50} 72,55 \mu\text{g/mL}$) dan tablet Y ($IC_{50} 68,13 \mu\text{g/mL}$).

Dari ketiga tablet hisap, masa simpan produk terpanjang adalah tablet hisap berisi ekstrak teh hijau dan ekstrak biji anggur (2,73 tahun), kemudian tablet hisap ekstrak teh hijau (2,11 tahun), dan kemudian tablet hisap berisi ekstrak teh hijau dan vitamin C (1,87 tahun).



Gambar 13. Kurva log konsentrasi vs probit % inhibisi Tablet X dan Tablet Y.

SARAN

Konsentrasi bahan aktif ekstrak daun teh hijau dan ekstrak biji anggur yang digunakan dalam penelitian ini sesuai konsentrasi minimal Angka Kecukupan Gizi (AKG). Dengan demikian, bila diinginkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dapat dilakukan peningkatan konsentrasi masing-masing bahan aktif tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Hartoyo A. Teh dan Khasiatnya bagi Kesehatan, Sebuah Tinjauan Ilmiah. Jogjakarta: Penerbit Kanisius; 2003. 16-9, 25-35.
- Liu Z. Tea Comprehensive Processing in China, Presentation. Hunan Provincial Research Centre of Natural Products, Changsha: Hunan Agricultural University; 2003. 13.
- Gruenwald J. Physician's Desk Reference for Herbal Medicine. 3rd ed. New Jersey: Thomson PDR at Montvale; 2004. 400-4, 408-14, 975-9.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology* 1999; 299, 152-78.
- Institute for Nutraceutical Advancement (INA). 2000, Methods Validation Programs: Determination of Total Catechins and Gallic Acid in Green Tea. INA Method 111.000, diambil dari www.ina.organization, diakses 16 Januari, 2009. 1-7.
- Hristea, EN, Caproiu MT, Pencu G, *et al.* Reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with HO \cdot , O $_2\cdot$, HO $_2\cdot$, and HOO \cdot Radical and Anions. *Int J Mol Sci.* 2006, 7: 130-143.
- Potchoo Y, Guissou LP, Lompo M, *et al.*, Antioxidant Activity of Aqueous Methanol and Ethyl Acetate Extract of Leaves of *Ammona senegalensis* Pers from Togo versus the One Originates from Burkina Faso, *Int J Pharmacol.* 2008. 1: 120.
- British Pharmacopoeia Commission, British Pharmacopoeia. London: The Department of Health, Social Services and Public Safety; 2005, 2174-5

9. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. Washington: Pharmaceutical Express and American Pharmaceutical Association; 2003. 596.
10. Departemen Kesehatan RI. *Farmakope Indonesia*, ed. IV, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995. 39.
11. Departemen Kesehatan RI. Keputusan Menteri Kesehatan RI No: 661/Menkes/SK /VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional, Jakarta: DepKes RI; 1994.
12. Sinko PJ, Martin. *Martins Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. 397.
13. Lieberman HA, Lachman L. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Volume 1, 2nd ed., rev and expanded, New York: Marcel Dekker; 1989. 543-83.
14. Dirjen Bina Pengolahan dan Pengolahan Hasil Pertanian. *Buletin Teknopro Hortikultura*, Jakarta: Direktorat Pengolahan dan Pemasaran Hasil Hortikultura; 2004. 1-2.
15. Dissolution Discussion Group Bulletin Board, DDG News and Dissolution Seminars, diambil dari <http://www.dissolution.com/vbulletin/showthread.php>, diakses 7 September, 2009. 1.