

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Teh Hitam

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif pada tanaman. Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang ada pada suatu tanaman. Proses ekstraksi teh dilakukan dengan cara penyeduhan. Isi sel teh hitam akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Pada penelitian ini, sebanyak 4 gram teh hitam diseduh dalam 100 ml air. Konsentrasi ekstrak teh hitam dibuat sama sedangkan suhu air dan waktu penyeduhan bervariasi, yaitu pada suhu 70°C dan 100°C selama 5, 15, dan 30 menit.

Menurut Laresolo (2008), komposisi yang benar untuk menghasilkan minuman teh dengan cita rasa yang pas yaitu sebanyak 2 gram bubuk teh diseduh dalam 100 ml air. Walaupun komposisi tersebut tidak bersifat mutlak karena tiap orang memiliki cita rasa yang berbeda. Sebagian orang menyukai teh yang kental dan sebagian lagi lebih menyukai teh yang tidak terlalu kental. Konsentrasi teh hitam yang digunakan pada penelitian ini lebih pekat, yaitu dua kali lipat dari saran penyajian. Hal ini dikarenakan untuk mengantisipasi apabila komposisi yang disarankan tersebut terlalu encer sehingga kemampuan inhibisi terhadap enzim belum bisa dilihat atau dihitung.

Perbedaan suhu penyeduhan didasarkan atas kebiasaan masyarakat dalam menyeduh teh. Pada umumnya, masyarakat memasak air sampai mendidih untuk menyeduh teh, suhu air mendidih adalah sekitar 100°C. Suhu penyeduhan 70°C diperoleh dari kebiasaan masyarakat kota yang sering memakai air panas yang berasal dari *dispenser* untuk menyeduh teh. Oleh karena itu, setelah dilakukan pengecekan dengan termometer, suhu air panas yang dihasilkan mesin *dispenser* menunjukkan suhu 70°C.

Tidak ada ketentuan khusus seberapa lama teh harus diseduh. Namun, apabila teh hitam diseduh terlalu sebentar maka rasa dan flavor teh kurang muncul sedangkan jika sebaliknya maka minuman teh akan terasa lebih pahit. Menurut Laresolo (2008) waktu yang sesuai untuk menyeduh teh adalah 5 menit. Perlakuan penyeduhan teh dibuat selama 5, 15, dan 30 menit untuk mengetahui perbedaan inhibisi yang dihasilkan oleh komponen bioaktif yang ada dalam teh jika diseduh dengan waktu yang bervariasi.

Ekstrak teh hitam diberi perlakuan atas perbedaan suhu awal air seduh dan waktu penyeduhannya. Berdasarkan perbedaan tersebut, terdapat enam ekstrak yang berbeda : 1) teh hitam yang diseduh pada suhu awal air 70°C selama 5 menit, 2) teh hitam yang diseduh pada suhu awal air 70°C selama 15 menit, 3) teh hitam yang diseduh pada suhu awal air 70°C selama 30 menit, 4) teh hitam yang diseduh pada suhu awal air 100°C selama 5 menit, 5) teh hitam yang diseduh pada suhu awal air 100°C selama 15 menit, dan 6) teh hitam yang diseduh pada suhu awal air 100°C selama 30 menit. Dikarenakan suhu penyeduhan akan menurun seiring lamanya waktu penyeduhan, maka dilakukan pengecekan suhu akhir. Pada suhu air awal 70°C setelah diseduh selama 5, 15, dan 30 menit, suhu ekstrak teh hitam menurun menjadi masing-masing 55, 45, dan 39°C. Sedangkan suhu air awal 100°C setelah diseduh selama 5, 15, dan 30 menit, suhu akhir ekstrak teh hitam menurun menjadi masing-masing 81, 61, dan 50°C.

Selain ingin mengetahui nilai inhibisi pada ekstrak awal, penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak teh tersebut masih memiliki kemampuan menghambat enzim alfa amilase dan alfa glukosidase setelah melewati saluran pencernaan. Oleh karena itu, proses

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

pencernaan secara *in vitro* dikenakan pada ekstrak teh hitam dengan cara mengubah nilai pH sesuai dengan kondisi saluran pencernaan. Sebagaimana kita ketahui bahwa makanan pertama-tama dicerna di mulut kemudian masuk ke lambung melalui kerongkongan. Kondisi di dalam lambung sangat asam, yaitu sekitar pH 1-2. Seberapa lama makanan berada di lambung itu tergantung dari jenis makanan dan berapa banyak jumlah yang dimakan. Rata-rata diperlukan waktu empat sampai lima jam untuk makanan padat keluar dari lambung sedangkan diperlukan waktu sekitar 30 menit untuk makanan cair atau minuman mengalir dari lambung ke usus kecil (Aryani 2011). Miller (1998) juga menambahkan bahwa waktu yang diperlukan lambung untuk mencerna minuman sekitar 30 menit. Makanan semifluid keluar dari lambung menuju usus halus yang memiliki pH sekitar netral dan bercampur dengan enzim pencernaan yang diproduksi oleh pankreas (Siregar 2004), seperti alfa amilase dan alfa glukosidase yang merupakan enzim pencernaan karbohidrat. Berdasarkan hal tersebut, maka ekstrak teh hitam yang merupakan cairan atau minuman tersebut diubah pH nya sesuai dengan pH lambung dan dидiamkan 30 menit, setelah itu diubah lagi pH larutannya menjadi sekitar pH 6.8 sesuai dengan kondisi usus halus.

B. Nilai pH Ekstrak Teh Hitam

Teh hitam yang diekstrak dengan suhu dan waktu yang berbeda kemudian diukur derajat keasamannya dengan menggunakan pH meter. Hasil pengukuran tersebut dinamakan nilai pH pada ekstrak awal. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa teh hitam yang diseduh pada 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit masing-masing memiliki nilai pH sebesar 5.00, 5.00, 5.06, 5.02, 5.04, dan 4.93. Analisis statistik menunjukkan bahwa faktor suhu, faktor waktu penyeduhan, dan kombinasi keduanya tidak memengaruhi nilai pH pada larutan ekstrak teh tersebut ($p > 0.05$). Oleh karena itu dapat diperkirakan bahwa nilai suatu pH larutan tidak dipengaruhi oleh besarnya suhu dan waktu serta interaksi keduanya pada penelitian ini. Data lengkap dan hasil analisis statistik dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Lampiran 3.

C. Inhibisi Enzim Alfa Amilase

a. Inhibisi Enzim Alfa Amilase pada Ekstrak Awal

Inhibisi enzim alfa amilase pada ekstrak awal dilakukan untuk melihat kemampuan ekstrak teh hitam pada kondisi awal dalam menghambat aktivitas enzim alfa amilase. Alfa amilase terdapat pada saliva dan cairan pankreas. Ekstrak teh awal belum melalui proses pencernaan *in vitro* sehingga nilai inhibisi yang dihasilkan dapat menggambarkan dugaan kemampuan ekstrak teh dalam menghambat enzim amilase saliva. Telah diketahui bahwa karbohidrat pertama-tama dicerna oleh enzim amilase saliva yang ada di mulut. Bayer *et al.* (1995) menambahkan bahwa struktur dan fungsi amilase saliva dan amilase pankreas tidak jauh berbeda.

Hasil penelitian pada ekstrak teh hitam yang diberi berbagai perlakuan suhu dan waktu menunjukkan adanya daya hambat terhadap enzim alfa amilase (Gambar 9). Teh hitam yang diseduh pada 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit memiliki daya hambat masing-masing sebesar 94.60%, 95.13%, 97.92%, 97.54%, 96.04%, dan 89.14% (Lampiran 4). Kontrol positif yang digunakan adalah Acarbose yang memiliki daya hambat sebesar 99.12% (Lampiran 4). Widowati (2007)



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

menerangkan bahwa penghambatan enzim alfa amilase berdampak pada penurunan daya cerna pati yang diharapkan dapat meningkatkan aktivitas hipoglikemik yang berperan positif untuk penderita diabetes. Ankolekar *et al.* (2011) meneliti bahwa teh yang telah difermentasi menunjukkan daya inhibisi enzim alfa amilase yang lebih tinggi dari teh yang tidak mengalami proses fermentasi, yaitu sekitar 71.60-84.10% dengan waktu ekstraksi teh hitam selama lima menit.

Analisis statistik ekstrak teh pada pH awal menunjukkan bahwa faktor suhu dan faktor waktu tidak berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa amilase ($p > 0.05$), sedangkan interaksi suhu dan waktu penyeduhan memiliki pengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa amilase ($p < 0.05$) (Lampiran 5).

Interaksi suhu dan waktu diuji kembali dengan melibatkan Acarbose. Hasilnya adalah interaksi tersebut berpengaruh terhadap nilai inhibisi ($p < 0.05$) (Lampiran 6). Oleh karena interaksi suhu dan waktu penyeduhan memengaruhi nilai inhibisi maka data diolah lebih lanjut dengan uji Duncan (Lampiran 7).

Uji lanjut Duncan menjelaskan empat ekstrak hasil penyeduhan 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, dan 100°C 15 menit tidak berbeda nyata dengan Acarbose. Keempat ekstrak tersebut diduga memiliki senyawa bioaktif yang dapat menghambat enzim alfa amilase dengan sangat baik. Dengan demikian diperkirakan alfa amilase yang ada pada saliva juga mengalami penghambatan oleh keempat ekstrak tersebut.

Berdasarkan hasil tersebut, dapat ditunjukkan pula bahwa ekstrak hasil penyeduhan 70°C 5 menit dan 100°C 30 menghasilkan nilai inhibisi yang berbeda nyata dengan Acarbose, yang mana lebih rendah dibandingkan dengan nilai inhibisi oleh Acarbose. Hal tersebut diduga dikarenakan pada kondisi penyeduhan 70°C 5 menit diduga senyawa bioaktif yang mampu menghambat enzim amilase belum banyak terekstrak, sedangkan ekstraksi 100°C 30 menit diduga merupakan kondisi penyeduhan yang terlalu lama sehingga diperkirakan komponen bioaktif yang memiliki kemampuan menginhibisi enzim alfa amilase mengalami perubahan struktur yang dapat menurunkan daya inhibisinya. Selain itu, mungkin saja pada kombinasi suhu dan waktu tersebut ada senyawa bioaktif jenis lain yang terekstrak yang memiliki kemampuan inhibisi enzim alfa amilase yang rendah yang memengaruhi nilai inhibisi secara keseluruhan karena senyawa bioaktif terekstrak pada waktu dan kondisi yang berbeda-beda.

Tadera *et al.* (2006) menemukan bahwa senyawa flavonoid yang memiliki potensi dalam menghambat enzim *porcine pancreatic amylase* adalah senyawa luteolin, myricetin dan quersetin. Minuman teh hitam mengandung myricetin dan quersetin masing-masing sebesar 0.3 dan 2.1 mg/100 g namun belum diketahui mengandung luteolin (Kyle dan Duthie diacu dalam Andersen dan Markham 2006). Tadera *et al.* (2006) juga mengemukakan bahwa struktur flavonoid yang bertanggung jawab dalam penghambatan enzim alfa amilase adalah ikatan ganda pada cincin B posisi 2' dan 3', 5-OH, ikatan pada cincin B di posisi 3', dan gugus OH pada cincin B. Perubahan pada struktur tersebut diduga dapat menurunkan kemampuan inhibisinya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

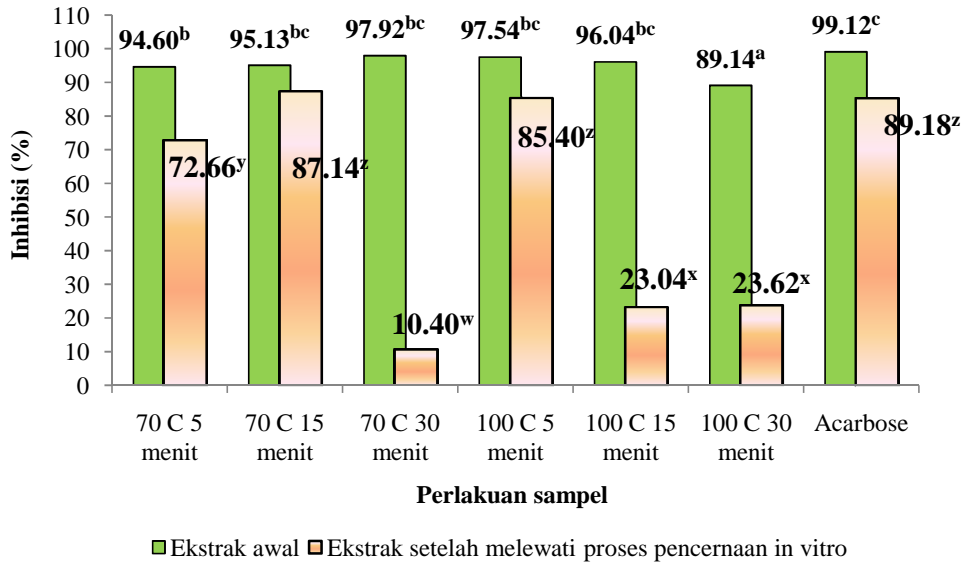
b. Inhibisi Enzim Alfa Amilase setelah Melewati Pencernaan

Keenam ekstrak teh setelah melalui simulasi pH sistem pencernaan mengalami penurunan kemampuan inhibisi enzim alfa amilase. Teh hitam yang diseduh pada kondisi penyeduhan 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit memiliki daya hambat masing-masing sebesar masing-masing sebesar 72.66%, 87.14%, 10.40%, 85.40%, 23.04%, 23.62%, sedangkan Acarbose sebagai kontrol positif juga mengalami penurunan daya inhibisi enzim alfa amilase menjadi sebesar 85.18% (Gambar 9). Data lengkap ekstrak dan Acarbose setelah melalui proses pencernaan *in vitro* dapat dilihat pada Lampiran 4. Kondisi ini dapat menggambarkan daya inhibisi teh hitam terhadap enzim alfa amilase yang bekerja pada usus halus, yaitu enzim amilase pankreas.

Hasil statistik menunjukkan bahwa proses pencernaan *in vitro* berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa amilase ($p < 0.05$) (Lampiran 8). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa teh yang diseduh pada 70°C 15 menit dan 100°C 5 menit memiliki nilai hambat terhadap enzim alfa amilase yang tidak berbeda nyata dengan Acarbose, yang mana memiliki nilai inhibisi yang relatif masih tinggi pada kondisi pH usus halus. Hal ini diperkirakan kombinasi penyeduhan pada 70°C selama 15 menit dan suhu 100°C selama 5 menit merupakan kombinasi yang dapat mengekstrak senyawa bioaktif yang mampu menghambat aktivitas enzim alfa amilase secara optimal walaupun sudah melewati proses pencernaan secara *in vitro* (Lampiran 9).

Uji t test dua berpasangan dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara nilai inhibisi oleh ekstrak pH awal dan oleh ekstrak setelah melewati proses pencernaan *in vitro*. Hasil analisis menunjukkan bahwa besar inhibisi enzim alfa amilase oleh ekstrak awal berbeda nyata dengan besar inhibisinya setelah melalui proses pencernaan *in vitro* ($p < 0.05$) (Lampiran 10). Dapat dilihat pula pada Gambar 9 bahwa nilai inhibisi enzim alfa amilase mengalami penurunan setelah melewati proses pencernaan *in vitro*. Hal ini diperkirakan bahwa senyawa bioaktif pada teh hitam yang bertanggung jawab dalam menghambat aktivitas enzim alfa amilase cenderung mengalami perubahan struktur atau tidak stabil setelah melewati pH lambung *in vitro* (pH 2) selama 30 menit kemudian dikondisikan berada pada pH usus halus *in vitro* (pH 6.8). Peleq *et al.* (1998) menyatakan bahwa penambahan asam pada kelompok polifenol seperti katekin, asam galat, dan tanin akan meningkatkan rasa sepat atau *astringency* yang disebabkan oleh pengikatan senyawa fenolik dengan enzim saliva amilase. Bayer *et al.* (1995) menambahkan bahwa struktur dan fungsi amilase saliva dan amilase pankreas tidak jauh berbeda. Penelitian yang lain, yaitu Lee *et al.* (2005) menyatakan bahwa pada kondisi pH asam theaflavin stabil, tetapi akan terdegradasi dengan lambat pada pH sekitar netral (pH 7-7.5) sedangkan pada pH 9 theaflavin terdegradasi dengan cepat. Hal tersebut menerangkan bahwa perubahan pH memengaruhi senyawa bioaktif dan memengaruhi potensi yang dimilikinya.

Khasiat hipoglikemik yang diberikan oleh ekstrak teh akan lebih optimal apabila dapat menghambat enzim amilase saliva di mulut dan enzim amilase pankreas di usus halus. Oleh karena itu, ekstrak teh yang dapat menghambat dua jenis enzim amilase tersebut adalah teh hitam yang diseduh pada suhu 70°C 15 menit dan 100°C 5 menit karena menghasilkan nilai inhibisi yang tinggi, baik pada ekstrak awal maupun setelah melalui pengaturan simulasi proses pencernaan.



Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda untuk kondisi ekstrak yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan uji lanjut Duncan

Gambar 9. Nilai inhibisi enzim alfa amilase dari ekstrak teh hitam

D. Inhibisi Enzim Alfa Glukosidase

a. Inhibisi Enzim Alfa Glukosidase pada Ekstrak Awal

Inhibisi alfa glukosidase pada ekstrak awal dilakukan untuk mendapatkan informasi awal apakah ekstrak teh hitam memiliki kemampuan menghambat enzim glukosidase sebelum diberi perlakuan lain. Hasil penelitian inhibisi enzim alfa glukosidase pada ekstrak pH awal dapat dilihat pada Gambar 10. Ekstrak hasil penyeduhan 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit memiliki daya hambat masing-masing sebesar 95.96%, 95.96%, 98.36%, 91.34%, 82.32%, dan 99.42% sedangkan Acarbose memiliki daya hambat sebesar 99.87% (Lampiran 11). Kwon *et al.* (2006) meneliti bahwa teh hitam memiliki daya hambat enzim alfa glukosidase yang paling besar diantara jenis teh lainnya, besar inhibisinya mencapai lebih dari 90%. Penelitian tersebut juga menjelaskan bahwa penghambatan yang lebih tinggi pada enzim alfa glukosidase disertai penghambatan enzim alfa amilase yang lebih rendah merupakan kombinasi yang paling baik untuk mengontrol diabetes. Perbedaan penelitian yang dilakukan Kwon *et al.* (2006) dengan penelitian ini adalah konsentrasi teh hitam dan unit enzim yang lebih besar, yaitu masing-masing 0.1 g/ml dan 1 unit/ml, cara analisis dengan menggunakan jumlah enzim yang lebih besar dua kali lipat dari jumlah substrat yang ditambahkan, serta cara ekstraksi yang menggunakan refluks selama 1 jam.

Analisis statistik menunjukkan bahwa faktor suhu, faktor waktu dan interaksi keduanya berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa glukosidase ($p < 0.05$) (Lampiran 12). Interaksi suhu dan waktu penyeduhan teh hitam dan Acarbose berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa glukosidase ($p < 0.05$) (Lampiran 15).

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Suhu penyeduhan 70°C menghasilkan daya inhibisi yang lebih tinggi (96.76%) dibandingkan dengan daya inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak menggunakan suhu penyeduhan 100°C (91.03%) (Lampiran 13). Besar penghambatan enzim alfa glukosidase dari yang paling tinggi sampai paling rendah dihasilkan oleh ekstrak yang diseduh selama 30 > 5 > 15 dengan daya hambat sebesar masing-masing 98.98 > 93.64 > 89.14% (Lampiran 14).

Lampiran 16 menunjukkan bahwa ekstrak hasil penyeduhan 70°C 30 menit dan 100°C 30 menit menghasilkan daya hambat enzim alfa glukosidase yang besarnya tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (Acarbose) dimana nilai inhibisinya paling tinggi. Hal ini diperkirakan karena senyawa bioaktif yang terdapat pada kedua ekstrak tersebut memiliki kemampuan menginhibisi enzim alfa glukosidase yang besarnya setara dengan Acarbose.

Tadera *et al.* (2006) melaporkan bahwa enzim alfa glukosidase dapat dihambat secara efektif oleh naringenin, kaemferol, luteolin, apigenin, katekin dan epikatekin, diadzein dan epigalokatekin galat. Katekin, epikatekin, dan epigalokatekin galat terkandung dalam minuman teh hitam sebesar 0.8, 3.7, 6.0 mg/100 g namun belum diketahui mengandung naringenin dan apigenin (Kyle dan Duthie). (Tadera *et al.* 2006) juga menambahkan bahwa senyawa flavonoid lain yang berpotensi menghambat enzim alfa glukosidase yang berasal dari khamir adalah antosianidin, isoflavon, dan kelompok flavonol. Valant-Vetschera dan Wollenweber diacu dalam Andersen dan Markham (2006) memaparkan bahwa quersetin, kaemferol, dan myricetin termasuk ke dalam golongan flavonol. Minuman teh hitam mengandung kaemferol, myricetin dan quersetin masing-masing sebesar 1.5, 0.3, dan 2.1 mg/100 g namun belum diketahui mengandung luteolin (Kyle dan Duthie diacu dalam Andersen dan Markham 2006). Tadera *et al.* (2006) meneliti bahwa struktur flavonoid yang memiliki andil dalam penghambatan enzim alfa glukosidase adalah cincin C tidak jenuh (*unsaturated*), 3-OH, 4-OH, ikatan pada cincin B di posisi 3', dan gugus hidroksil pada cincin B.

b. Inhibisi Enzim Alfa Glukosidase setelah Melewati Pencernaan

Nilai inhibisi enzim alfa glukosidase setelah melalui proses pencernaan *in vitro* pada teh hitam yang diseduh pada 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit memiliki daya hambat masing-masing sebesar 90.56%, 97.74%, 96.15%, 87.10%, 98.37%, 97.94%, dan Acarbose memiliki daya hambat sebesar 99.48% (Gambar 10). Data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 11.

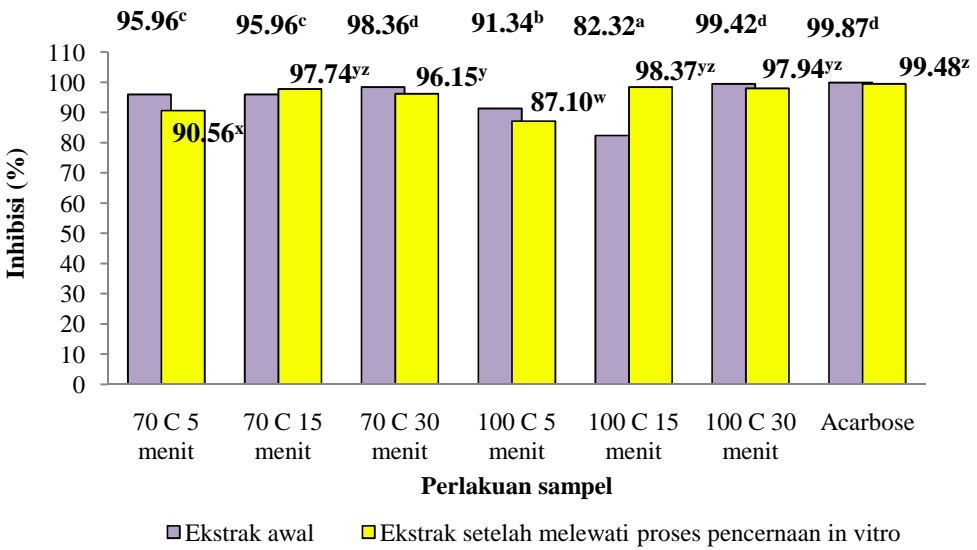
Uji statistik menunjukkan bahwa proses pencernaan secara *in vitro* memengaruhi nilai inhibisi enzim alfa glukosidase ($p < 0.05$) (Lampiran 17). Teh hitam yang diseduh pada 70°C 15 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit memiliki daya hambat yang tidak berbeda nyata dengan Acarbose sebagai kontrol positif (Lampiran 18). Oleh karena itu, dapat diperkirakan bahwa kombinasi suhu dan waktu penyeduhan yang paling baik untuk menghambat enzim alfa glukosidase adalah teh hitam yang diseduh pada 70°C 15 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit.

Uji t-test dua berpasangan menunjukkan bahwa besar inhibisi alfa glukosidase oleh ekstrak awal tidak berbeda nyata dengan besar inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak setelah melalui proses pencernaan *in vitro* ($p \text{ value} > 0.05$) (Lampiran 19). Hal ini diperkirakan bahwa senyawa bioaktif yang dapat menghambat enzim alfa glukosidase memiliki kecenderungan tahan terhadap perubahan pH.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

E. Total Fenol

Uji total fenol dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik di dalam teh hitam yang diekstrak dengan kombinasi suhu dan waktu yang berbeda. Fenol merupakan senyawa yang strukturnya mengandung gugus hidroksil yang berikatan dengan gugus fenil sedangkan polifenol adalah senyawa kimia yang ada pada tumbuhan yang memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Oleh karena itu, hasil uji total fenol akan mewakili secara kasar jumlah polifenol yang ada pada ekstrak. Polifenol daun teh jumlahnya hampir 35% berat kering (Shahidi dan Naczki 2004). Sudah banyak penelitian yang melaporkan bahwa senyawa polifenol memiliki andil dalam menghambat aktivitas enzim. Gugus OH pada senyawa tersebut diyakini dapat berikatan dengan protein. Haslam *et al.* (1999) diacu dalam Ali (2002) menyatakan bahwa pembentukan kompleks protein-fenol disebabkan salah satunya oleh adanya ikatan hidrogen antara gugus hidroksil fenolik dengan gugus NH- dan CO- pada protein, selain itu dilaporkan juga adanya ikatan kovalen dan hidrofobik pada reaksi tersebut. Kompleks protein-fenol ada yang bersifat dapat balik maupun tidak dapat balik. Polifenol teroksidasi berinteraksi lebih kuat dengan protein (Siebert 1999 diacu dalam Ali 2002) dan dapat berinteraksi dengan asam amino yang dapat menghambat aktivitas enzim (Millic *et al.* 1968 diacu dalam Ali 2002).

Pengujian dilakukan hanya pada ekstrak awal teh hitam. Pertama-tama, kurva standar asam galat dibuat dengan memplotkan absorbansi yang dihasilkan dengan beberapa konsentrasi asam galat yang sudah ditentukan. Persamaan garisnya adalah $y = 0.0044x - 0.1021$ dengan $R = 0.9902$. Kurva asam galat dan persamaannya dapat dilihat pada Lampiran 20. Kemudian total fenol ekstrak didapat dari persamaan garis kurva standar asam galat tersebut. Perhitungan total fenol ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 21. Hasil penelitian total fenol dinyatakan sebagai Asam Galat Ekuivalen (GAE). Teh yang diseduh pada 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit masing-masing mengandung total fenol sebesar 19.35, 19.46, 19.52, 18.48, 22.82, dan 18.33 mg GAE/g (Gambar 11). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat 19.35 mg komponen fenolik dalam 1 gram teh (contohnya pada teh yang diseduh pada 70°C 5 menit), dan seterusnya. Kwon *et al.* (2007) meneliti bahwa kandungan komponen fenolik pada teh hitam sebesar 4.75 mg/g sedangkan Moraes de Souza *et al.* (2008) melaporkan bahwa teh hitam mengandung total polifenol dengan rentang 35-40 mg GAE/g. Perbedaan kandungan fenol di dalam teh dipengaruhi oleh varietas, unsur hara dalam tanah, musim, serta proses pengolahannya seperti perbedaan lama fermentasi dan sebagainya.

Analisis statistik menerangkan bahwa perbedaan suhu penyeduhan teh hitam tidak memengaruhi kandungan total fenol di dalamnya ($p > 0.05$), sedangkan perbedaan waktu penyeduhan dan interaksi suhu-waktu penyeduhan memberikan pengaruh terhadap besarnya kandungan total fenol ekstrak teh ($p < 0.05$). Hasil uji statistik total fenol dapat dilihat pada Lampiran 22.

Ekstraksi polifenol dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya jenis pelarut, pH, suhu, banyaknya tahap ekstraksi, ukuran partikel dan bentuknya. Escribano dan Santos (2002) menyatakan bahwa suhu tinggi pelarut dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstrak dan mengurangi viskositas pelarut, namun suhu yang terlalu tinggi dapat mendegradasi senyawa polifenol. Harbourne *et al.* (2009) menambahkan bahwa penurunan total fenol pada suhu tinggi dikarenakan adanya penguapan komponen volatil fenol, penguraian senyawa fenol dan penggabungan senyawa fenol tertentu dengan komponen lain. Marostica Jr *et al.* (2010) mengatakan bahwa beberapa komponen fenolik sensitif terhadap panas (*thermosensitive*). Ross *et al.* (2011) meneliti tentang stabilitas panas pada senyawa fenolik dan

melaporkan bahwa kadar katekin dan epikatekin menurun seiring dengan kenaikan suhu sedangkan asam galat dan galokatekin meningkat jumlahnya seiring bertambahnya suhu, dengan penggunaan suhu berkisar 120-240°C dengan waktu 0-90 menit. Pada percobaan ini, perbedaan suhu awal penyeduhan tidak memengaruhi jumlah fenol karena diperkirakan jarak kedua suhu tersebut tidak besar sehingga jumlah fenolnya belum terlihat perbedaannya.

Kondisi pH lingkungan memengaruhi kestabilan polifenol. Friedmen dan Jurgens (2000) meneliti kestabilan senyawa polifenol tanaman pada rentang pH 3-11 dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa komponen fenolik jenis kafeat, klorogenat, dan asam galat tidak stabil pada pH tinggi dan ketidakstabilannya bersifat tidak dapat balik, polifenol jenis asam klorogenat stabil pada pH asam, serta polifenol jenis katekin, epigalokatekin, asam ferulat, rutin, dan asam trans sinamat cenderung tahan degradasi akibat perubahan pH. Perbedaan tersebut dipengaruhi kekuatan resonansi dalam menstabilkan ion fenoksida dan quinon pada senyawa polifenol tersebut. Penelitian yang dilakukan Kwon *et al.* (2006) memberikan informasi bahwa senyawa fenolik memiliki daya inhibisi enzim alfa glukosidase yang berbeda-beda sesuai pH lingkungannya, fenol jenis asam hidroksibenzoat, asam galat, dan asam protokatekuat memiliki daya hambat enzim alfa glukosidase lebih tinggi pada pH 3.5-4.5 dibandingkan pada pH 6.5-7.5, sedangkan katekol, quersetin, katekin, asam rosmarat, asam elagat, dan asam kumarat memperlihatkan hasil yang sebaliknya. Oleh karena itu, dapat diperkirakan bahwa pH saluran pencernaan juga memengaruhi besarnya suatu inhibisi enzim sesuai jenis dan jumlah komponen fenolik yang ada pada tanaman tersebut. Teh hitam diketahui mengandung senyawa fenol seperti katekin, epigalokatekin, asam galat, dan quersetin, rutin, asam kafeat, asam ferulat, dan asam kumarat yang memiliki kestabilan terhadap pH yang berbeda-beda yang akan memengaruhi nilai inhibisi terhadap suatu enzim.

Teh yang diseduh selama 15 menit mengandung total fenol yang berbeda nyata dibandingkan dengan total fenol pada teh yang diseduh selama 5 dan 30 menit. Total fenol yang diperoleh pada ekstrak teh hitam yang diseduh selama 15 menit jumlahnya lebih tinggi dibandingkan pada teh yang diekstrak selama 5 menit dan 30 menit (Lampiran 23). Hal ini diperkirakan bahwa waktu penyeduhan selama 15 menit merupakan waktu yang paling optimal untuk mengekstrak senyawa fenol yang ada pada teh. Waktu penyeduhan teh hitam selama 5 menit diduga belum mampu mengekstrak senyawa polifenol lebih banyak, sedangkan waktu penyeduhan selama 30 menit mungkin merupakan waktu yang terlalu lama untuk mengekstrak polifenol sehingga senyawa tersebut menjadi teroksidasi. Telah diyakini sebelumnya bahwa waktu ekstraksi yang terlalu lama akan memicu pemaparan oksigen lebih banyak yang akan meningkatkan peluang terjadinya oksidasi senyawa fenolik (Shahidi dan Nacz 2004). Polifenol oksidase (PPO) adalah enzim yang berperan dalam oksidasi senyawa polifenol. PPO aktif pada suhu optimum berkisar 50-80°C (Capecka 2005). Keberadaan PPO menyebabkan total fenol berkurang karena telah teroksidasi. Yang Li (2009) menambahkan bahwa pada umumnya, semakin lama waktu ekstraksi maka proses ekstraksi semakin efisien, namun ekstraksi yang terlalu lama juga tidak disarankan karena dapat meningkatkan resiko terjadinya oksidasi senyawa fenolik kecuali jika ditambahkan agen pereduksi pada pelarut. Agen pereduksi yang biasa ditambahkan untuk mencegah oksidasi fenolik adalah asam askorbat (FAO 2000). Penambahan asam askorbat pada beberapa produk minuman teh dalam kemasan dilakukan untuk mengurangi terjadinya oksidasi.

Oksidasi adalah proses kimia yang melibatkan transfer elektron dari atom atau molekul (sekelompok atom) melalui reaksi dengan atau tanpa adanya penambahan oksigen atau kehilangan hidrogen (Geldenhuys 2009). Fenol sangat mudah teroksidasi. Buah yang

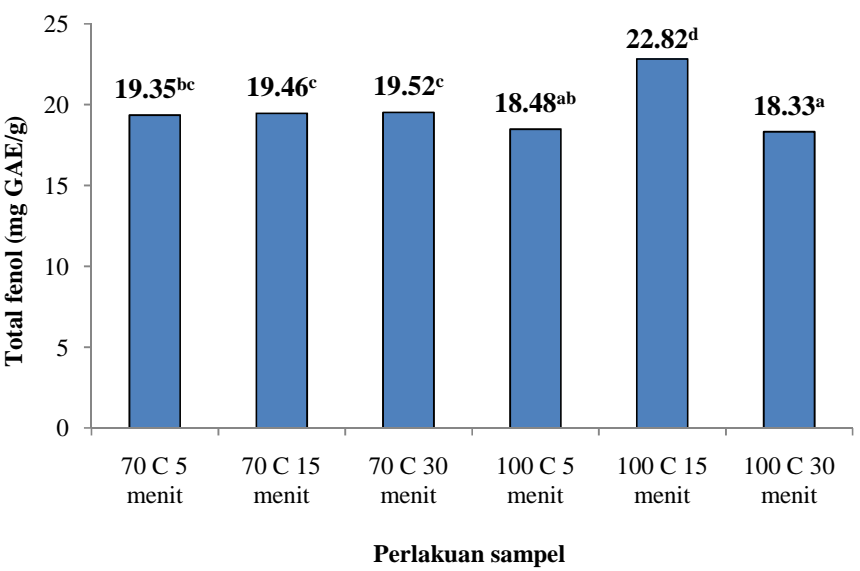
Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

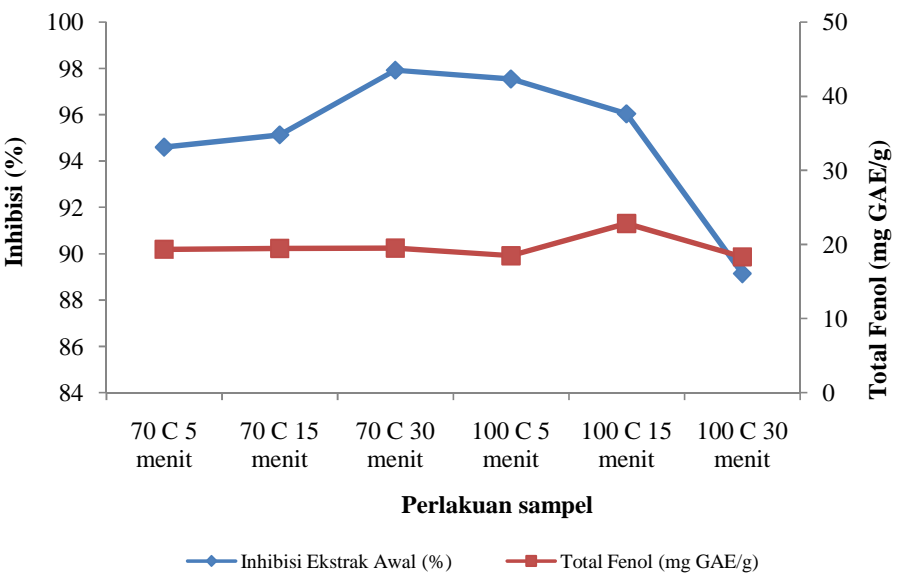
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.





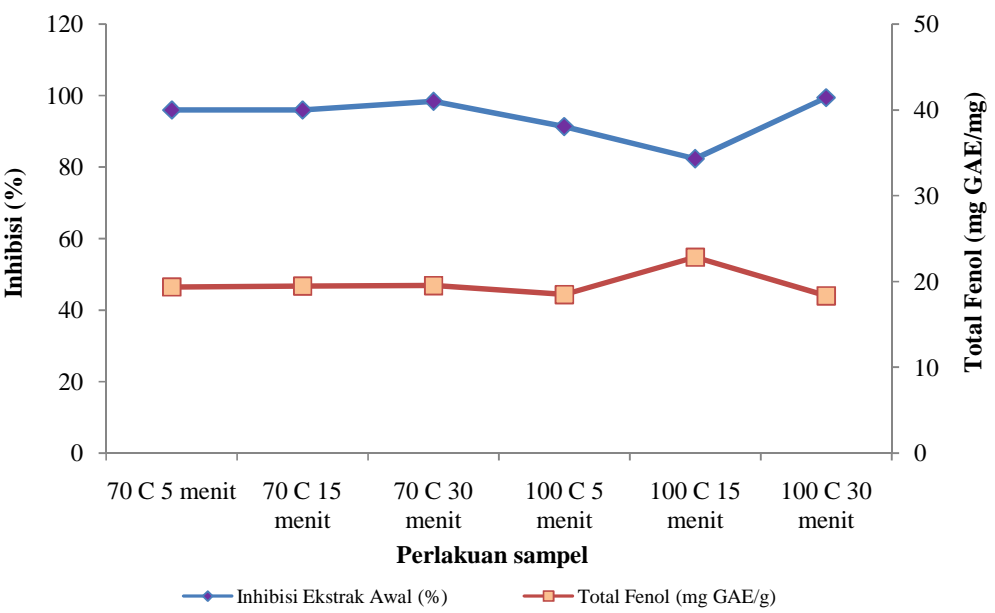
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

F. Kadar Tanin

Tanin merupakan metabolit sekunder yang termasuk ke dalam kelompok senyawa fenolik. Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein dan mengkelat logam. Rangari (2007) mengemukakan bahwa tanin merupakan kompleks polifenolik berbobot molekul tinggi yang dihasilkan melalui reaksi polimerisasi senyawa polifenol sederhana. Bate-Smith (1962) diacu dalam Hagerman (2002) mendefinisikan tanin sebagai senyawa fenolik larut air yang memiliki bobot molekul berkisar 500-3,000 (disebut ester asam galat), memberikan reaksi fenolik yang sama dengan senyawa fenolik lainnya dan memiliki sifat khas seperti kemampuannya dalam mengendapkan gelatin dan protein lainnya. Bahkan tanin yang memiliki berat molekul sebesar 20,000 (disebut proantosianidin) juga pernah dilaporkan. Selain dengan protein, tanin juga memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan polisakarida (Haslam 1989 diacu dalam Hagerman 2002).

Tanin dibedakan atas dua jenis, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis adalah tanin yang dapat dihidrolisis oleh asam-asam mineral atau enzim seperti enzim tannase dan struktur molekulnya merupakan turunan dari asam galat. Tanin terkondensasi atau dikenal dengan proantosianidin adalah tanin yang tidak mudah dihidrolisis oleh asam mineral dan enzim serta merupakan turunan flavonoid. Rangari (2007) menggolongkan daun teh sebagai tanaman yang mengandung tanin terkondensasi. Penelitian yang dilakukan Engelhardt *et al.* (2003) menunjukkan bahwa teh hitam mengandung tanin terkondensasi (proantosianidin) sebesar 0.5 g/100 g dan memiliki tanin terhidrolisis berkisar 0.02-0.15 g/100 g. Penelitian tersebut juga melaporkan bahwa semakin lama proses fermentasi pada teh maka konsentrasi tanin terhidrolisis semakin rendah.

Penentuan kadar tanin dilakukan dengan menggunakan formaldehida. Tanin, khususnya tanin terkondensasi, dapat bereaksi dengan formaldehida pada kondisi asam. Tanin bereaksi dengan monomernya untuk membentuk senyawa berbobot molekul lebih besar. Monomer dari proantosianidin adalah katekin. Penambahan aldehida seperti formaldehida dapat mempercepat terjadinya reaksi tersebut. Formaldehida akan menyerang cincin benzena pada katekin (tanin terkondensasi) (Garro Galvez *et al.* 1996 diacu dalam Kassim *et al.* 2011) membentuk endapan tanin-formaldehida.

Pengujian kadar tanin dilakukan pada ekstrak awal. Teh yang diseduh pada 70°C 5 menit, 70°C 15 menit, 70°C 30 menit, 100°C 5 menit, 100°C 15 menit, dan 100°C 30 menit memiliki kadar tanin masing-masing sebesar 3.14%, 4.01%, 4.20%, 3.40%, 3.06%, dan 1.18% (Gambar 16). Data perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 26. Atanassova *et al.* (2009) meneliti kadar tanin pada beberapa tanaman dan buah-buahan, termasuk teh hitam. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kadar tanin yang ada pada teh hitam mencapai 10.23%. Perbedaan persentase ini mungkin terjadi karena perbedaan cara ekstraksi dan metode analisisnya. Pada penelitian tersebut, teh hitam diekstrak hanya dengan merendam dengan air selama 4 jam. Metode analisis yang digunakan pada penelitian tersebut juga menggunakan titrimetri, bukan gravimetri yang digunakan dalam penelitian ini.

Analisis statistik menunjukkan bahwa suhu penyeduhan, waktu penyeduhan, dan interaksi keduanya memengaruhi kadar tanin yang ada pada ekstrak ($p < 0.05$) (Lampiran 27). Kadar tanin pada suhu penyeduhan 70°C berbeda nyata dengan kadar tanin pada suhu 100°C. Suhu penyeduhan 70°C menghasilkan rata-rata kadar tanin (3.78%) yang lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata kadar tanin yang ada pada ekstrak teh yang diseduh pada 100°C (2.54%) (Lampiran 28). Hal tersebut menunjukkan bahwa suhu awal penyeduhan 70°C lebih optimal dari pada 100°C dalam mengekstrak senyawa tanin. Lokeswari *et al.* (2011) menguji kadar tanin pada

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

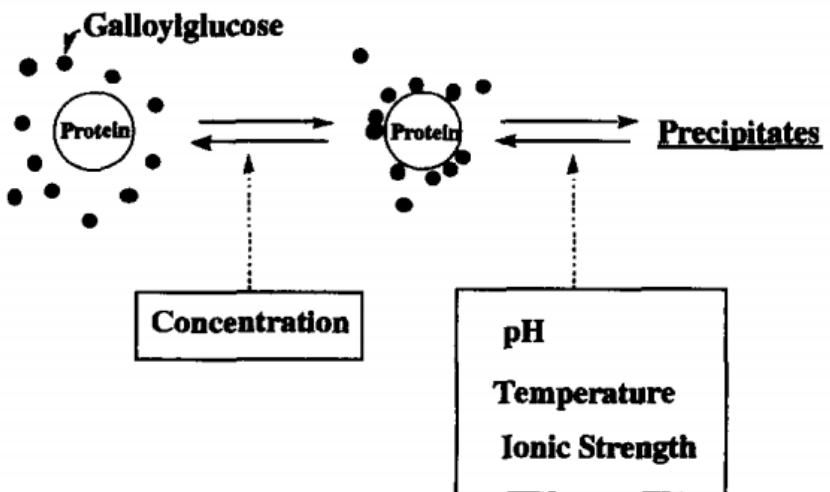
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

kelopak tumbuhan *Caesalpinia coriaria* dengan perbedaan suhu air untuk ekstraksi berkisar 75°C sampai 100°C, hasil penelitiannya membuktikan bahwa jumlah tanin yang terekstrak paling tinggi diperoleh dari ekstraksi menggunakan suhu air 90°C, suhu air 75°C, 80°C, 85°C, dan 95°C dapat mengekstrak tanin dengan jumlah lebih rendah, sedangkan suhu air 100°C menghasilkan kadar senyawa tanin yang paling rendah. Tiga waktu penyeduhan yang berbeda ternyata memengaruhi kadar tanin ekstrak teh. Kadar tanin pada teh yang diseduh selama 5 dan 15 menit tidak berbeda nyata. Kadar tanin pada ekstrak teh yang diseduh selama 30 menit lebih rendah dari pada kadar tanin pada ekstrak teh yang diseduh selama 5 dan 15 menit (Lampiran 29). Kemungkinan yang terjadi adalah senyawa tanin sudah mencapai kadar maksimumnya sehingga semakin lama teh diseduh maka akan menyebabkan penurunan kadar tanin.

Uji statistik menunjukkan interaksi suhu dan waktu memengaruhi kadar tanin ($p < 0.05$) (Lampiran 30). Dapat dilihat pada Gambar 14 bahwa kadar tanin tertinggi diperoleh pada kondisi penyeduhan 70°C 15 menit dan 70°C 30 menit sehingga kombinasi suhu dan waktu penyeduhan tersebut dapat dikatakan optimal dalam mengekstrak senyawa tanin, sedangkan kadar tanin terendah diperoleh dari kondisi penyeduhan 100°C 30 menit (Lampiran 31).

Hasil pengujian kadar tanin ekstrak teh memperlihatkan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan total fenolnya padahal tanin merupakan bagian total fenol yang seharusnya jumlahnya lebih rendah. Hal ini diperkirakan menunjukkan adanya kesalahan positif dalam pengujian kadar tanin ini. Formaldehida diperkirakan dapat mengikat struktur benzen dari senyawa selain tanin. Senyawa bukan tanin yang memiliki struktur benzen adalah salah satunya asam amino aromatik (triptofan, tirosin, dan fenilalanin). Asam amino merupakan penyusun protein. Telah diketahui sebelumnya bahwa kandungan protein pada teh hitam cukup tinggi, yaitu 16 % (Nasution dan Tjiptadi 1975). Adanya kandungan protein yang tinggi diduga dapat mengganggu pengukuran kadar tanin sehingga jumlah kadar tanin lebih tinggi dari seharusnya.

Kawamoto *et al.* (1997) membagi mekanisme pembentukan kompleks tanin-protein pada dua tahap, proses pembentukan kompleks awal (*initial complexation*) dan kemudian dilanjutkan dengan proses pengendapan (*precipitation*). Hasil penelitiannya menyimpulkan bahwa konsentrasi protein merupakan faktor yang lebih dominan dalam pembentukan tahap pertama yaitu pembentukan kompleks sedangkan suhu, pH, dan kekuatan ionik memengaruhi proses pengendapan. Tanin yang digunakan pada penelitiannya adalah jenis galloylglucose. Gambar 15 menunjukkan faktor-faktor yang memengaruhi pengikatan tanin dengan protein.



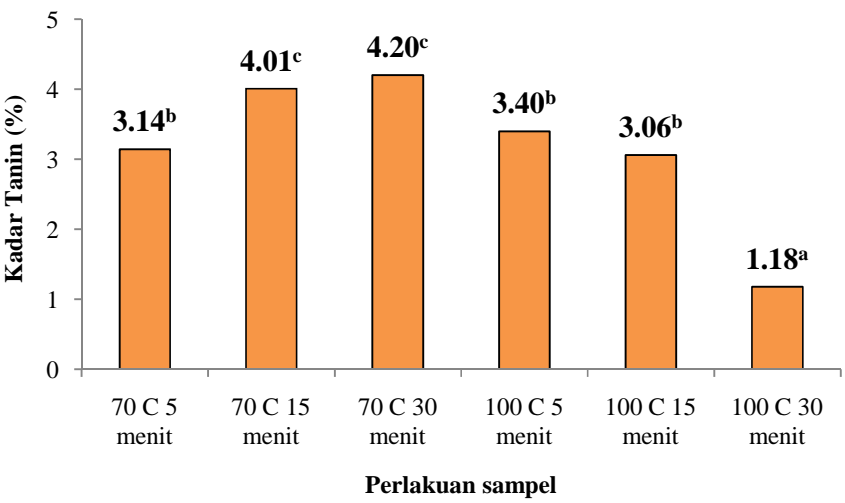
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

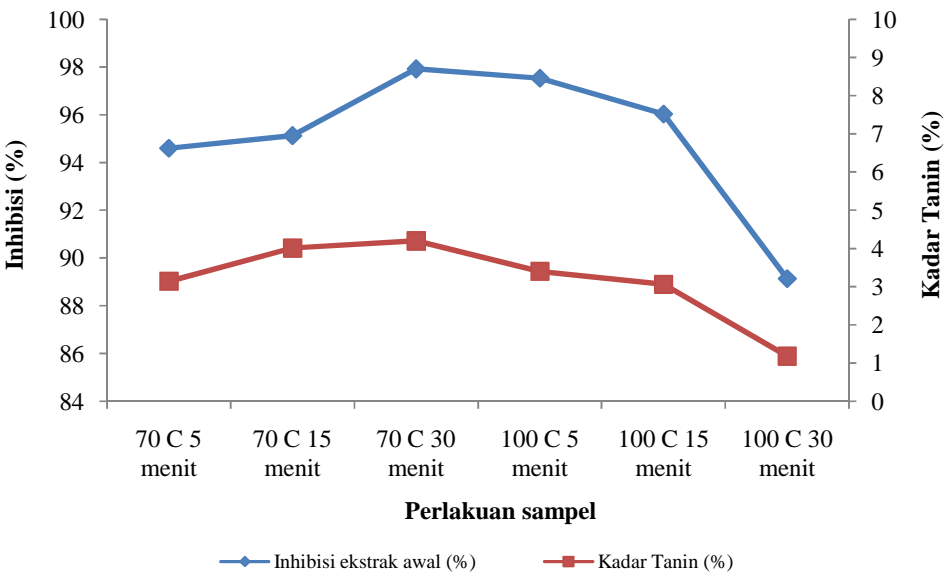




- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agriculture





Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

