

OPTIMATION OF GREEN TEA WASTE AXTRACTION USING MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION TO YIELD GREEN TEA EXTRACT

OPTIMASI EKSTRAKSI AMPAS TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) MENGGUNAKAN METODE MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION UNTUK MENGHASILKAN EKSTRAK TEH HIJAU

Dwi Handayani*, Abdul Mun'im and Anna S. Ranti

Herbal Magister, Faculty of Pharmacy Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

ABSTRACT

Indonesia has a great wealth of biodiversity, but unfortunately the natural resources has been little studied and used in the therapy. One of the plants, grown in Indonesia is tea. Tea waste is waste from the tea industry, is quite a lot and has not been used optimally. This study aims to obtain the most effective green tea waste extraction conditions using MAE (Microwave Extraction Assisted) to produce green tea extract that has antioxidant optimum. From the research, the optimum MAE conditions are 450 W power, 60% ethanol, solid solvent comparison 1: 8 and 8 minutes extraction to produce extracts with optimum levels of polyphenols. Extracts obtained have moisture content of 7.83%, pH 5.5, and total polyphenols, total flavonoids, gallic acid, catechin, EGCG and caffeine respectively by 7.1%, 1.04%, 2.76%; 0.83%, 5.18% and 1.03%. Compared with the existing reference, extracts obtained qualify as cosmetic raw materials.

Keyword : antioxidants, extract green tea, green tea oil, green tea waste, MAE

ABSTRAK

Indonesia memiliki kekayaan keanekaragaman hayati yang besar, namun sayangnya potensi sumber daya alam yang tersedia masih sedikit yang diteliti dan digunakan dalam pengobatan. Salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah teh. Ampas teh adalah limbah dari industri teh, tersedia cukup banyak dan belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi ekstraksi ampas teh hijau menggunakan metode MAE (Microwave Assisted Extraction) yang paling efektif sehingga dihasilkan ekstrak teh hijau yang mempunyai antioksidan optimum. Dari hasil penelitian, kondisi optimum MAE adalah daya 450 W, pelarut etanol 60%, perbandingan simplisia – pelarut 1 : 8 dan lama ekstraksi 8 menit untuk menghasilkan ekstrak dengan kadar polifenol optimum. Ekstrak yang diperoleh mempunyai kadar air 7,83 %; pH 5,5; dan polifenol total, flavonoid total, asam galat, katekin, EGCG serta kofein berturut-turut sebesar 7,1%; 1,04%; 2,76%; 0,83%; 5,18% dan 1,03%. Dibandingkan dengan acuan yang ada, ekstrak yang diperoleh memenuhi syarat sebagai bahan baku kosmetik.

Kata kunci : ampas teh hijau, antioksidan, ekstrak teh hijau, MAE

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan keanekaragaman hayati yang besar, terdapat lebih kurang 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan, lebih kurang 7.500 jenis diantaranya termasuk tanaman obat. Biodiversitas Indonesia dikatakan sebagai yang tertinggi kedua setelah Brasil. Keanekaragaman hayati ini merupakan aset nasional yang bernilai tinggi untuk pengembangan industri agromedisin di dunia. Potensi bahan baku di dalam negeri sebenarnya sangat melimpah.

Tetapi potensi sumber daya alam yang tersedia itu belum dimanfaatkan secara optimal (Zuhud, 2011).

Teh merupakan minuman yang dapat diterima oleh seluruh lapisan masyarakat. Seiring dengan perkembangan perekonomian, kemajuan pendidikan masyarakat, arus informasi yang semakin baik, dan perubahan gaya hidup membuat pola konsumsi masyarakat berubah. Termasuk konsumsi masyarakat terhadap minuman teh. Perusahaan yang memproduksi minuman teh mengembangkan berbagai produk guna memenuhi keinginan konsumen yang menginginkan kepraktisan. Salah satu produk yang dimaksud adalah minuman teh dalam kemasan kotak atau *tetra pack* (Septina, 2008).

*Corresponding author: Dwi Handayani
Email: handayani97@yahoo.com

Ampas teh merupakan limbah pabrik pembuatan minuman teh, yang ketersediaannya banyak dengan jumlah produksi 166.000 ton/tahun dan saat ini belum banyak dimanfaatkan (Saqifah, Purbowati, & Rianto, 2010). Selama ini ampas teh hanya diolah kembali menjadi kompos. Penelitian yang telah dilakukan terhadap ampas teh antara lain untuk minuman (Etoh, Ohtaki, Kato, Kulkarni, & Morita, 2010), pakan ayam broiler (Krisnan, 2004) dan pakan domba (Simon, 2009). Ampas teh hijau mempunyai aktivitas antioksidan dari fraksi non polifenol (Higashi-Okai, Yamazaki, Nagamori, & Okai, 2001).

Salah satu bahan baku alami yang banyak digunakan dalam kosmetika adalah ekstrak dan minyak teh hijau karena mempunyai banyak efek seperti antioksidan (Quan, Hang, Ha, De, & Tuyen, 2006; Silverberg, Jagdeo, Patel, Siegel, & Brody, 2011; Thiele & Dreher, 2005), antibakteri (Hull Vance, Tucci, & Benghuzzi, 2011; Sharma, Gupta, Sarethy, Dang, & Gabrani, 2012), fotoprotektif (Kaur & Saraf, 2011), anti karies, anti ketombe (Pepe, Wenninger, & McEwen, 2002) dan meningkatkan elastisitas kulit (T. Mahmood, Akhtar, Khan, Shoaib Khan, & Saeed, 2011).

Metode ekstraksi yang banyak digunakan pada industri jamu dan kosmetika di Indonesia adalah maserasi dan perkolasai, padahal teknologi ekstraksi lain sudah banyak berkembang diantaranya *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Metode MAE mempunyai keunggulan antara lain waktu yang dibutuhkan lebih singkat (Quan, et al., 2006), pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit (Eskilsson & Bjorklund, 2000; Jain, Jain, Pandey, Vyas, & Shukla, 2009), sesuai untuk konstituen termolabil (Mandal, Mohan, and Hemalatha, 2007), memberikan hasil ekstraksi yang efisien (Delazar, Nahar, Hamedeyazdan, and Sarker, 2012) dan mengurangi emisi CO₂ (Cardoso-Ugarte, Juárez-Becerra, Sosa-Morales, and López-Malo, 2013). Karena menggunakan *microwave* rumah tangga yang dimodifikasi, metode MAE mempunyai keterbatasan jumlah simplisia untuk sekali ekstraksi. Perbandingan ekstraksi polifenol dari teh antara lain dengan maserasi selama 20 jam, ultrasonik 90 menit, refluks 45 menit dan MAE 4 menit, dimana polifenol yang diperoleh pada MAE lebih tinggi dibanding metode lainnya (Xuejun Pan, Guoguang Niu, & Huizhou Liu, 2003).

METODOLOGI

Bahan dan alat

Ampas Teh hijau TBS dari Industri Minuman Teh dalam kemasan, asam galat (Sigma), (+)(-) katekin C1251 (Sigma), EGCG (Epigallocatechin gallat) E4143 (Sigma), Kofein

(BPFI), BHT (Butyl Hydroxytoluenum 101,34%) (baku pembanding laboratorium), DPPH (Wako), Kertas saring, kertas saring Whatman No. 1, Akuades, Folin Ciocalteu Merck, Larutan Na₂CO₃ jenuh, Etanol, Metanol HPLC grade, kalium fosfat monobasa, Kalium besi sianida 1%, asam trifloroasetat, FeCl₃ 0,1%, asam klorida encer P, Asam asetat glasial, aluminium klorida 2%, aseton P, etil asetat, asetonitril, natrium nitrit, aluminium klorida, natrium hidroksida, toluena, aseton, asam formiat, Bouchardat LP, Mayer LP, Dragendorff LP, natrium klorida, natrium sulfat anhidrat, serbuk seng P, timbal asetat, benzena, eter, kloroform, baku buffer pH 4 dan 7, plate silika gel 60 F₂₅₄ Merck.

Microwave Modena Buono-MV 3002 dimodifikasi di laboratorium Fisika FMIPA UI, Labu ukur, Krus porselen, Timbangan Analitik, Timbangan mikro, Spektrofotometer Shimadzu UV-1800, KCKT Shimadzu LC-20AD, Pipet Volume, Pipet Tetes, Erlenmeyer 500mL, Oven, Penangas air, sentrifugator, Tanur, chamber, deksikator, pH meter Mettler Toledo Seven Multi, Camag Automatic TLC Sampler 4, Camag ADC 2 Automatic Developing Chamber dan Camag TLC Visualizer.

Penetapan kadar air simplisia

Ditimbang saksama lebih kurang 2g zat dan masukkan dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam, dan ditimbang. Lanjutkan pengeringan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Pembuatan ekstrak teh hijau

Ekstrak teh hijau dibuat dengan menimbang lebih kurang 50 gram ampas teh hijau, dilarutkan dalam 400 mL etanol 60%, ekstraksi dengan MAE daya *microwave* 450 W selama 8 menit. Dilakukan 8 kali.

Penentuan daya antioksidan

Metode Peredaman Radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Marinova and Batchvarov, 2011)

Sebanyak 1mL ekstrak dicampur dengan 3mL larutan DPPH 41,69ppm, diamkan pada suhu 37°C selama 15menit terlindung cahaya, kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum yaitu λ_{517} nm.

Metode FRAP (*Ferric Ion Reducing Antioxidant Power*)

Sebanyak 2,5mL ekstrak dicampur dengan 2,5mL 200 mM buffer Natrium fosfat (pH 6,6) dan 2,5mL Kalium besi sianida 1%, Campuran diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit, kemudian ditambahkan 2,5mL asam trifloroas etat 5%. Larutan disentrifugasi dengan kecepatan 1500rpm selama 20menit. Supernatan dikumpulkan dan diambil 5mL ditambah 1mL FeCl₃ 0,1%. Serapan diukur pada panjang gelombang 70nm (Oboh & Omorogie, 2011).

Pengujian mutu ekstrak teh hijau

Sejumlah 50 gram simplisia diekstraksi dengan 400 mL etanol 60% menggunakan *microwave* dengan daya 450 Watt selama 8 menit. Filtrat yang ada ditampung, pelarut diuapkan kemudian ekstrak ditimbang sampai bobot konstan.

Kadar polifenol total

Sejumlah 1 mL sampel (akuades sebagai blanko) dimasukkan ke dalam vial 10 mL, ditambahkan 5 mL pelarut Folin-Ciocalteu 10% dan 4 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% kemudian dicampur merata. Diamkan selama 1 jam. Larutan diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 725 nm. Kandungan total polifenol dihitung berdasarkan nilai absorbansi menggunakan kurva regresi linier dengan baku pembanding asam galat. Hasilnya ditunjukkan sebagai ekivalen asam gallat/ 100g sampel (Anesini, *et al.*, 2008; Quan, *et al.*, 2006).

Kadar flavonoid total

Sejumlah 1 mL ekstrak dimasukkan dalam labu 10 mL, ditambahkan 4 mL akuades dan 0,3 mL NaNO₂ 5%, diamkan 5 menit kemudian tambahkan 0,6 mL AlCl₃ 1% diamkan 6 menit. Kemudian tambahkan 2 mL NaOH 1 M dan akuades sampai volume 10 mL. Ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm. Sebagai baku digunakan katekin dengan berbagai konsentrasi.(D. Marinova, Ribarova, & Atanassova, 2005; Yoo, Lee, Lee, Moon, & Lee, 2008)

Kadar Asam Galat, Katekin, EGCG dan Kofein

Larutan standar: timbang 10 mg baku pembanding asam galat, katekin, EGCG dan kofein, larutkan dalam akuades sampai 50 mL. Buat larutan standar seri dengan konsentrasi larutkan dalam metanol HPLC *grade*. Larutan uji: timbang 100 mg ekstrak teh hijau larutkan akuades sampai

50mL. Ambil 2mL larutan sampel, encerkan dalam metanol HPLC *grade* sampai 5mL. Kolom shimpack CLC-ODS (M) 25cm. Fase gerak = air : metanol : asam asetat glasial = 69 : 28 : 3. Laju alir 0,8mL/minit. KCKT dengan detektor *Photodiode Array* (PDA), panjang gelombang 200-400 nm (Anonim, 2004; Zuo, Chen, & Deng, 2002). Volume injeksi 20 µL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

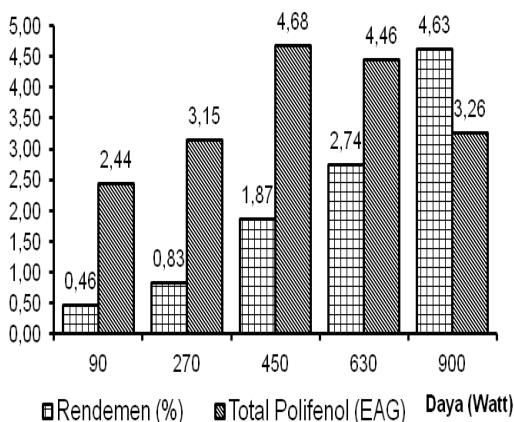
Hasil optimasi ekstrak

Sebelum dilakukan ekstraksi, dilakukan penetapan kadar air simplisia secara gravimetri sebagai standarisasi awal dari simplisia, diharapkan kadar air simplisia kurang dari 10 % untuk mencegah tumbuhnya jamur pada penyimpanan sebelum dilakukan uji selanjutnya. Dari hasil uji penetapan kadar air simplisia secara gravimetri diperoleh kadar air simplisia 9,92 ± 0,02 %.

Variasi daya *Microwave*

Optimasi metode ekstraksi yang pertama dilakukan adalah variasi daya *microwave*. Pemilihan daya tersebut menyesuaikan dengan menu yang tersedia pada alat.

Hasil uji variasi daya *microwave* didapatkan hasil sebagai mana gambar 1. Berdasarkan variasi daya, untuk rendemen didapatkan hasil semakin tinggi daya semakin besar rendemen. Sedangkan untuk polifenol total naik dari daya 90 W sampai daya 450 W kemudian menurun. Penurunan total polifenol kemungkinan karena pada panas berlebih terjadi degradasi polifenol. Dari hasil optimasi daya ini didapatkan hasil total polifenol optimum pada daya 450 W.



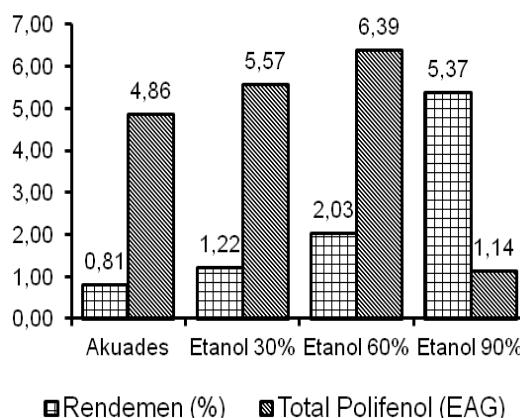
Gambar 1. Hubungan antara Daya Microwave, Rendemen dan Polifenol Total

*EAG = Ekivalen Asam Galat (gram)

Variasi pelarut

Optimasi berikutnya adalah variasi pelarut. Pelarut yang digunakan adalah akuades dan etanol dengan berbagai perbandingan.

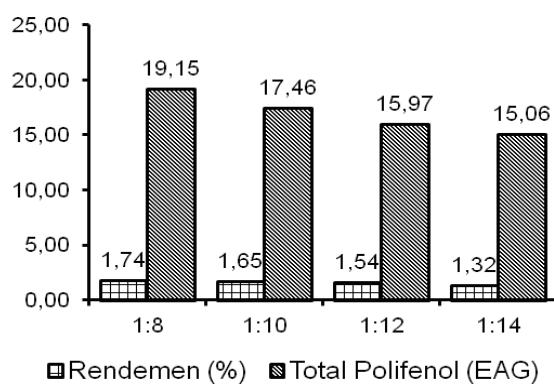
Hasil uji variasi pelarut didapatkan hasil sebagai mana gambar 2. Berdasarkan variasi pelarut, untuk rendemen didapatkan hasil semakin tinggi kadar etanol semakin besar rendemen. Sedangkan untuk polifenol total naik sampai etanol 60% kemudian menurun karena polifenol bersifat polar sehingga lebih larut dalam pelarut yang polar.



Gambar 2. Hubungan antara Pelarut, Rendemen dan Polifenol Total

Variasi perbandingan simplisia pelarut

Optimasi selanjutnya adalah variasi perbandingan simplisia pelarut. Perbandingan simplisia pelarut mengacu kepada prinsip ekstraksi, dimana pelarut yang dibutuhkan minimal merendam seluruh simplisia.



Gambar 3. Hubungan antara Perbandingan Simplisia Pelarut, Rendemen dan Polifenol Total

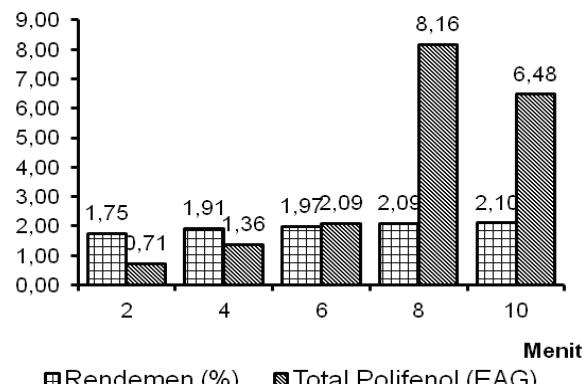
Hasil uji variasi perbandingan simplisia pelarut didapatkan hasil sebagai mana gambar 3. Berdasarkan variasi perbandingan simplisia

pelarut, untuk rendemen didapatkan hasil semakin banyak pelarut semakin kecil rendemen. Begitu juga dengan polifenol total. Hal ini kemungkinan karena dalam waktu 2 menit, panas yang dihasilkan belum merata pada pelarut yang lebih banyak sehingga hasil uji untuk rendemen dan polifenol total paling optimum pada perbandingan 1 : 8.

Variasi waktu

Optimasi selanjutnya adalah variasi waktu untuk mengetahui waktu yang paling efektif untuk mendapatkan polifenol total optimum.

Hasil uji variasi perbandingan simplisia pelarut didapatkan hasil sebagai mana gambar 4. Berdasarkan variasi waktu, untuk rendemen didapatkan hasil semakin lama waktu ekstraksi, rendemen yang didapatkan semakin banyak. Sedangkan untuk total polifenol, meningkat dari menit ke 2 sampai ke 8 kemudian menurun pada menit ke 10.



Gambar 4. Hubungan antara Waktu, Rendemen dan Polifenol Total

Analisa mutu ekstrak

Organoleptik

Organoleptik ekstrak teh hijau antara lain bentuk serbuk halus, warna Hijau Pantone 1545, aroma khas dan rasa agak khelat.

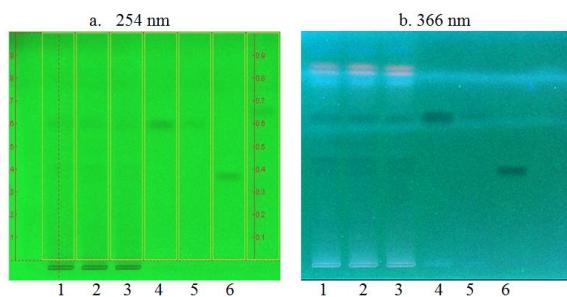
Uji tidak spesifik

Uji terhadap ekstrak antara lain kadar air, kadar abu dan kadar abu tidak larut asam secara gravimetri. Dari hasil penelitian dan perhitungan diperoleh kadar air, kadar abu ekstrak dan kadar abu tidak larut asam berturut-turut $7,83 \pm 0,14\%$; $4,56 \pm 0,48\%$ dan $3,40 \pm 0,21\%$. Untuk membandingkan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia yang digunakan dihitung rendemen. Dari hasil penelitian dan perhitungan diperoleh rendemen $3,07 \pm 0,03\%$. Untuk mengetahui tingkat keasaman dari ekstrak, diukur pH ekstrak 1g

dalam 100mL menggunakan pH meter dan diperoleh hasil 5,532. Dari hasil penapisan fitokimia diperoleh hasil alkaloid, glikosida, antrakuinon dan sterol negatif sedangkan untuk saponin, flavonoid, tanin dan terpen positif.

Profil kromatografi ekstrak

Untuk mengetahui kandungan dalam ekstrak, dilakukan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak toluena : aseton : asam formiat (9 : 9 : 2). Pembanding yang digunakan adalah asam galat, katekin dan EGCG. Bercak yang ada diamati pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm. Bercak sampel dan bercak pembanding dibandingkan bentuk dan warna bercaknya. Bentuk dan warna bercak yang sama menunjukkan bahwa sampel mengandung pembanding (gambar 5).



Gambar 5. Kromatogram Ekstrak pada 254 dan 366nm [1 – 3 sampel, 4 asam gallat, 5 katekin dan 6 EGCG]

Metode peredaman radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diukur dari kemampuannya menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model adalah DPPH yang merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan. Metode ini paling banyak digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan tanaman obat karena mudah dan sederhana.

Dari kurva hubungan antara kadar dan % penghambatan, dapat diketahui IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) sampel dan baku. IC₅₀ adalah kadar yang dapat memberikan penghambatan 50%. Dari hasil perhitungan, didapatkan hasil $11,21 \pm 0,29$ ppm.

Daya antioksidan secara FRAP

Metode ini berprinsip pada kenaikan serapan dari campuran reaksi. Peningkatan

serapan menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Dalam metode ini, antioksidan membentuk kompleks berwarna dengan kalium ferri-sianida, asam trifluroasetat dan besi (III) klorida yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Dari hasil pengukuran secara spektrofotometri dan perhitungan didapatkan hasil daya antioksidan sampel 1g ekivalen BHT/100 gram sampel dengan menggunakan kurva baku $y = 0,0025x + 0,1722$ dengan korelasi r sebesar 0,9422.

Penetapan kadar polifenol total

Dari pengukuran spektrofotometer dan perhitungan, didapatkan total polifenol sebanyak 7,1g ekivalen asam galat/100g sampel dengan menggunakan kurva baku $y = 0,0183x+0,045$ dengan nilai korelasi r sebesar 0,9934.

Penetapan kadar flavonoid total

Dari hasil pengukuran dan perhitungan didapatkan hasil kadar flavonoid total sampel sebanyak 1,04 g ekivalen katekin/100g bahan dengan menggunakan kurva baku $y = 0,0015x+0,4229$ dengan nilai korelasi r sebesar 0,9763.

Penetapan kadar asam gallat, katekin, EGCG dan kofein secara KCKT

Untuk menetapkan kadar asam gallat, katekin, EGCG dan kofein digunakan metode KCKT dengan fase gerak air : metanol : asam asetat glasial (69 : 28 : 3). Pengukuran kadar asam galat, katekin, EGCG dan kofein sampel menggunakan kurva baku. Untuk asam galat menggunakan persamaan $y = 57270x-289005$ dengan nilai korelasi r sebesar 0,9930. Untuk katekin menggunakan persamaan $y=15939x-12190$ dengan nilai korelasi r sebesar 0,9207. Untuk EGCG menggunakan persamaan $y= 20254x-160344$ dengan nilai korelasi r sebesar 0,9940. Untuk kofein menggunakan persamaan $y= 73443x-64948$ dengan nilai korelasi r sebesar 0,9965.

Dari hasil pengukuran dan perhitungan diperoleh hasil asam galat $2,76 \pm 0,27$ %; katekin $0,83 \pm 0,18$ %; EGCG $5,18 \pm 0,20$ % dan kofein $1,03 \pm 0,06$ %.

KESIMPULAN

Microwave Assisted Extraction (MAE) dapat digunakan untuk mengekstraksi ampas teh hijau (*Camellia sinensis*) untuk menghasilkan ekstrak teh hijau. Metode ekstraksi ampas teh menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) yang optimum adalah dengan daya 450 W, pelarut etanol 60% selama 8 menit dan

perbandingan simplisia pelarut 1 : 8 untuk mendapatkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan optimum. Ekstrak yang diperoleh mempunyai kadar air 7,83 %; pH 5,532 dan polifenol total, flavonoid total, asam galat, katekin, EGCG serta kofein berturut-turut sebesar 7,1%; 1,04%; 2,76%; 0,83%; 5,18% dan 1,03%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anesini, C., Ferraro, G. E., & Filip, R. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *J.Agric.Food Chem.*, 56, 9225-9229.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2006. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia* (Vol. 2). Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2010. *Acuan Sediaan Herbal* (1 ed. Vol. 5). Jakarta.
- Barel, A. O., Paye, M., & Maibach, H. I. 2001. Introduction. In A. O. Barel, M. Paye & H. I. Maibach (Eds.), *Handbook of Cosmetic Science and Technology* (pp. 1-2). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Cardoso-Ugarte, G. A., Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. 2013. Microwave-Assisted Extraction of Essential Oils from Herbs. *J. Microwave Power & Electromagnetic Energy*, 47(1), 63-72.
- Committee of Expert on Cosmetic Products. 2001. *Plants in Cosmetics* (Vol. II). Germany: Koeblin Fortuna Druck.
- Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyazdan, S., & Sarker, S. D. 2012. Microwave-assisted extraction in natural products isolation. *Methods Mol Biol*, 864, 89-115.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medica Indonesia* (Vol. V). Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia* (IV ed.). Jakarta.
- E.Reich, A.Schibli, Widmer, V., Jorns, R., Wolfram, E., & Debatt, A. 2006. HPTLC Methods for the Identification of Green Tea and Green Tea Extract. *J.Liq.Chromatogr.&Rel.Tech.*, 14, 2141-2151.
- Eskilsson, C. S., & Bjorklund, E. 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J Chromatogr A*, 902(1), 227-250.
- Etoh, H., Ohtaki, N., Kato, H., Kulkarni, A., & Morita, A. 2010. Sub-critical water extraction of residual green tea to produce a roasted green tea-like extract. *Biosci Biotechnol Biochem*, 74(4), 858-860.
- Higashi-Okai, K., Yamazaki, M., Nagamori, H., & Okai, Y. 2001. Identification and antioxidant activity of several pigments from the residual green tea (*Camellia sinensis*) after hot water extraction. *J UOEH*, 23(4), 335-344.
- Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., & Shukla, S. 2009. Microwave Assisted Extraction for Phytoconstituents – An Overview. *Asian J. Research Chem*, 2 (1), 19-25.
- Kaur, C. D., & Saraf, S. 2011. Photochemoprotective Activity of Alcoholic Extract of *Camellia sinensis*. *Int.J. Pharmacol*, 7 (3), 400-404.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., AL-Othman, A., EL-Agbar, Z., & Farah, H. 2008. Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk. J. Biol*, 32, 51-55.
- Krisnan, R. 2004. Pengaruh Pemberian Ampas Teh (*Camellia sinensis*) Fermentasi dengan Aspergillus niger pada Ayam Broiler. *JITV*, 10(1).
- Li DC, & Jiang JG. 2010. Optimization of The Microwave-Assisted Extraction Conditions of Tea Polyphenols from Green Tea. *Int.J.Food Sci.Nutr.*, 61(8), 837-845.
- Mahmood, T., Akhtar, N., & Khan, B. A. 2010. The Morphology, Characteristics, and Medicinal Properties of *Camellia sinensis*' Tea. *J. Med. Plant. Res.*, 4(19), 2028-2033.
- Mahmood, T., Akhtar, N., Khan, B. A., Shoaib Khan, H. M., & Saeed, T. 2011. Changes in skin mechanical properties after long-term application of cream containing green tea extract. *Aging Clin Exp Res*, 23(5-6), 333-336.
- Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. 2007. Microwave Assisted Extraction - An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Phcog Rev.*, 1(1), 7-18.
- Marinova, G., & Batchvarov, V. 2011. Evaluation of the Methods for Determination of the Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgarian J. Agri. Sci.*, 17(1), 11-24.
- Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K. J. 2012. *Camellia Sinensis* (Green Tea): A Review. *Global Journal of Pharmacology*, 6(2), 52-59.
- Oboh, H. A., & Omorogie, I. P. 2011. Total Phenolic and Antioxidant Capacity of Some Nigerian Beverages. *Nigerian J. of Basic and App. Sci*, 19 (1), 68-75.
- Pepe, R. C., Wenninger, J. A., & McEwen, G. N. (Eds.). 2002. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook* (9 ed. Vol. 1). Washington Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association.
- Quan, P. T., Hang, T. V., Ha, N. H., De, N. X., & Tuyen, T. N. 2006. Microwave-Assisted Extraction

- of Polyphenols From Fresh Tea Shoot. *Sci. & Tech. Develop.*, 9(8), 69-75.
- Rence, B. W. 1994. Microwave Assisted Extraction. *American Laboratory*, RE14, 34-39.
- Saito, S. T., Welzel, A., Suyenaga, E. S., & Bueno, F. 2006. A Method for Fast Determination of Epigallocatechin Gallate (EGCG), Epicatechin (EC), Catechin (C) and Caffeine (CAF) in Green Tea Using HPLC. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 26(2), 394-400.
- Saqifah, N., Purbowati, E., & Rianto, E. 2010. *Pengaruh Ampas Teh dalam Pakan Konsentrat terhadap Konsentrasi VFA dan NH3 Cairan Rumen untuk Mendukung Pertumbuhan Sapi Peranakan Ongole*. Paper presented at the Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Septina, N. R. 2008. Analisis Tingkat Kepuasan dan Loyalitas Konsumen terhadap Minuman Teh Siap Minum (*Ready to Drink*) Merek Teh Botol Sosro di Jakarta Timur. from IPB: <http://repository.ipb.ac.id>
- Sharma, A., Gupta, S., Sarethy, I. P., Dang, S., & Gabrani, R. 2012. Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food Chem.*, 135(2), 672-675.
- Silverberg, J. I., Jagdeo, J., Patel, M., Siegel, D., & Brody, N. 2011. Green tea extract protects human skin fibroblasts from reactive oxygen species induced necrosis. *J Drugs Dermatol*, 10(10), 1096-1101.
- Simon. 2009. *Pengaruh Pemberian Ampas Teh (Camellia sinensis) dalam Pakan Terhadap Analisis Usaha Domba Lokal Jantan Lepas Sapih Selama Tiga Bulan Penggemukan*. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Thiele, J. J., & Dreher, F. 2005. Antioxidant Defense Systems in Skin. In P. Elsner & H. I. Maibach (Eds.), *Cosmeceuticals and Active Cosmetics: Drugs Versus Cosmetics* (Vol. 27, pp. 65-66). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Xuejun Pan, Guoguang Niu, & Huizhou Liu. 2003. Microwave-Assisted Extraction of Tea Polyphenols and Tea Caffeine from Green Tea Leaves. *Chem. Engineering & Processing*, 42, 129-133.
- Yoo, K. M., Lee, C. H., Lee, H., Moon, B. K., & Lee, C. Y. 2008. Relative Antioxidant and Cytoprotective Activities of Common Herbs. *Food Chemistry*, 106, 929-936.
- Zuhud, E. A. M. 2011. *Peran Sumber Daya Hutan dalam Mendukung Pengembangan Agro-Industri Djamoe*. Paper presented at the Workshop Nasional Jamu dan Kosmetik.
- Zuo, Y., Chen, H., & Deng, Y. 2002. Simultaneous Determination of Catechins, Caffeine and Gallic Acids in Green, Oolong, Black and Pu-erh Tea Using HPLC with a Photodiode Array Detector. *Talanta*, 57, 307-316