

## KAJIAN KROMATOGRAFI DAN KEMILUMINESEN SEBATIAN KIMIA DALAM TEH

\* **Ibtisam Abdul Wahab, Nor Idha Liana Ishak, Kathleen J Jalani, Hannis Fadzillah Mohsin**

Jabatan Farmakologi & Kimia, Fakulti Farmasi,  
Universiti Teknologi MARA Selangor, Kampus Puncak Alam, 42300 Bandar Puncak Alam,  
Selangor Darul Ehsan, Malaysia

\*Corresponding author's email: [ibtisam@puncakalam.uitm.edu.my](mailto:ibtisam@puncakalam.uitm.edu.my)

Submission date: 21 February 2017 Accepted date: 5 April 2017 Published date: 15 May 2017

### Abstract

In general, extracts from the tea leaves (*Camellia* species), is a common drink, worldwide. Most researchers embark on the antioxidant testings on these extracts. Phenolics, specifically, are the compounds that could provide benefits to health. The most significant phenolics in tea includes the catechins. These chemical compositions of the tea receive much focus, because they are dominant in the tea extracts. The antioxidant activity, fundamentally, is due to these phenolic molecules. Nevertheless, their quantity were reduced during the tea fermentation process. This study is hoped to evaluate the amount of pyrogallol, i.e. the component of catechin, which is present in various types of tea. From the literature review, pyrogallol exhibits antioxidant and antitumor characteristics. Meanwhile, the methodology in this study includes the thin layer chromatography and chemiluminescence assay. Therefore, the qualitative observations were performed, as compared to the quantitative measurements. From the experimental findings, pyrogallol could be detected via the chromatographic technique. In addition, the chemiluminescence reaction gave red luminescence from the green tea extract. Finally, this study could contribute towards the knowledge enhancement in constructing chemical conceptions among the university learners.

### Abstrak

Umumnya, ekstrak daun teh (spesis *Camellia*) menjadi salah satu minuman kegemaran penduduk dunia. Kebanyakan penyelidik menjalankan ujikaji antioksidasi ke atas ekstrak ini. Fenolik terutamanya, merupakan sebatian yang menawarkan kebaikan teh kepada kesihatan manusia. Fenolik yang penting di dalam teh adalah katechin. Komposisi kimia ini mendapat fokus di dalam kajian kerana sebatian ini adalah dominan di dalam ekstrak teh. Peranan aktiviti antioksidasi ini, asasnya, dimainkan oleh molekul fenolik. Namun, kuantitinya menurun semasa proses fermentasi teh. Penyelidikan ini diharapkan dapat menilai amaun pirogallol, iaitu komponen di dalam katechin, yang wujud di dalam pelbagai jenis teh. Dari kajian literatur, pirogallol menunjukkan ciri-ciri antioksidasi dan antitumor yang tinggi. Metodologi yang terlibat di dalam kajian ini, termasuklah analisis kajian kromatografi lapisan nipis dan assay kemiluminesen. Oleh yang demikian, pemerhatian secara kualitatif dilakukan, berbanding pengukuran secara kuantitatif. Daripada hasil eksperimen, pirogallol dapat dikesan dengan menggunakan teknik kromatografi tersebut. Di samping itu, tindakbalas kemiluminesen menunjukkan luminasi berwarna merah dari ekstrak teh hijau. Kajian ini secara tidak langsungnya, dapat meningkatkan pengetahuan mengenai konsep kimia di kalangan siswazah.

**Kata kunci:** fitokimia; kemiluminesen; kromatografi; teknologi; teh

## 1.0 PENDAHULUAN

Teh merupakan di antara minuman yang paling banyak ditemui di seluruh dunia. Daun teh yang biasa diminum diperolehi dari pokok teh (*Camellia sinensis*) dari keluarga Theaceae (Jadual 1). Beberapa jenis tumbuhan lain juga dianggap sebagai sumber minuman teh. Pokok teh sendiri ditanam secara meluas di Asia Tenggara (Lin et al., 1996; Wu et al., 2012). Ia tumbuh di kawasan tropika dan bercuaca lembab, dengan taburan hujan yang banyak (Carloni et al., 2013). Teh juga dikenali dengan kebaikannya dari sudut kesihatan, di samping keunikan rasa dan aromanya (Zhang et al., 2013). Teh yang dihasilkan mempunyai perasa yang unik dan tersendiri, seperti teh hijau, teh oolong dan pelbagai lagi, bergantung kepada variasi aroma teh, warna dan rasa, serta mengikut kaedah penghasilan daun teh (Safdar et al., 2016). Daun teh yang dipetik akan melalui pelbagai jenis proses. Kepelbagaian proses dan fermentasi sampel *Camellia sinensis* inilah yang akan menghasilkan pelbagai jenis teh, seperti teh hijau (tanpa proses fermentasi), teh oolong (semi fermentasi) dan teh hitam (teh yang mengalami fermentasi). Proses-proses ini lah yang turut memberi penampilan, rasa, perisa, serta kandungan kimia (Sharangi, 2009). Teh hijau diguna secara meluas di Asia, seperti di Jepun, China dan juga di Asia Tengah. Sebaliknya, teh hitam lazimnya diminum di barat, terutamanya di United Kingdom. Penduduk di sana biasa meminum 3-4 cawan teh sehari, berbanding di negara lain, yang hanya minum 1-2 cawan sehari (Ryan & Petit, 2010).

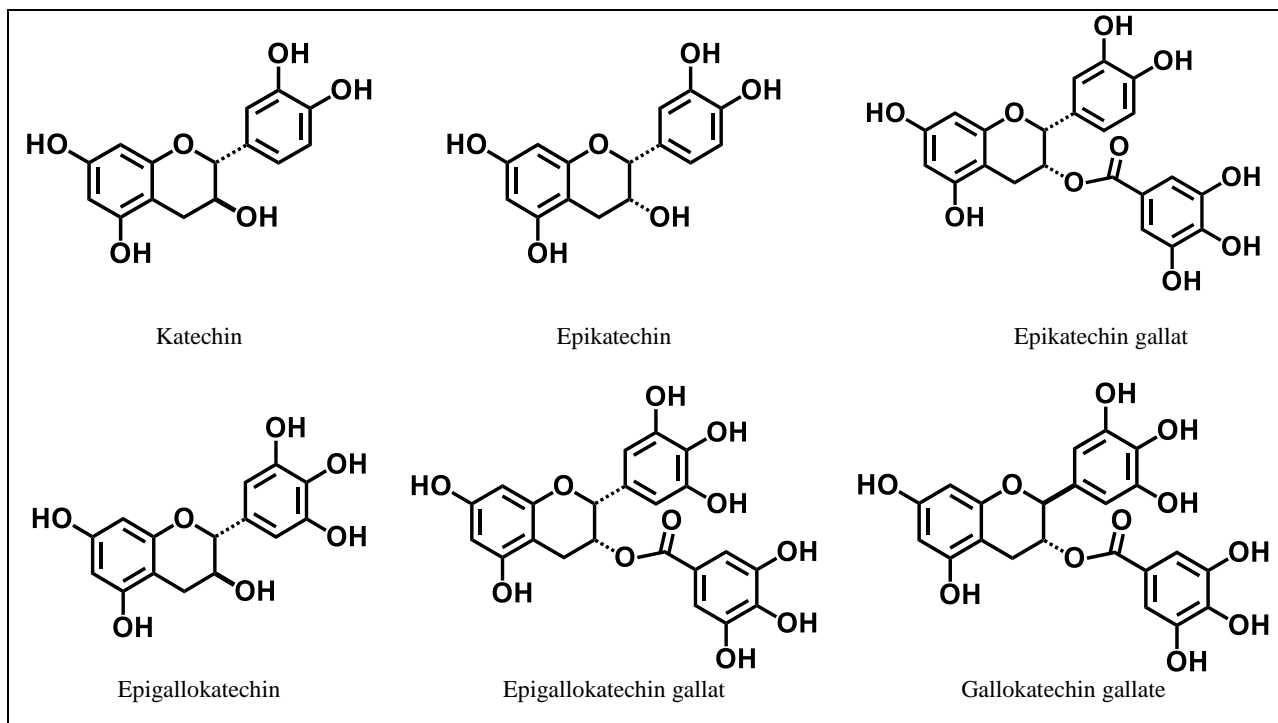
**Jadual 1** Kepelbagaian jenis teh dari pelbagai spesies dan keluarga tumbuhan

Jenis teh	Keluarga tumbuhan	Spesis
Daun teh	Theaceae	<i>Camellia sinensis</i>
Batang serai	Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i>
Bunga kamomil	Asteraceae	<i>Matricaria retutica</i> , <i>Chamaemelum nobile</i>
Daun pandan	Pandanaceae	<i>Pandanus amaryllifolius</i>

Kaedah infusi digunakan untuk mengekstrak tumbuhan teh, dengan melibatkan bahagian daun. Selain daun, organ pokok yang lain seperti, buah, bunga dan akar, juga boleh diekstrak untuk dijadikan minuman (Jadual 1). Ekstrak teh ini disediakan sama ada melalui proses rendaman atau renihan di dalam air panas atau sejuk (Aoshima, Hirata & Ayabe, 2007; Oh et al., 2013; Safdar et al., 2016). Ekstrak teh merupakan satu campuran sebatian kimia yang terdiri dari pelbagai komposisi, iaitu daripada fenolik ringkas kepada molekul kompleks thearubigin, yang mempunyai ciri-ciri antioksidan. Ekstrak teh juga adalah satu sumber tumbuhan semulajadi yang kaya dengan polifenol seperti katechin (Rajah 1), quersetin, kaemperol dan banyak lagi, yang mampu menyumbang kepada kebaikan kesihatan. Komposisi alkaloid purin, misalnya kafein, dapat memberikan perbezaan yang ketara, apabila dibandingkan di kalangan spesies teh (Perva-Uzunalić et al., 2006). Kepelbagaian ini juga boleh dikaitkan dengan laluan sintetik dan metabolik sebatian kimia tersebut (Li et al., 2017). Kajian kandungan utama di dalam teh hitam, misalnya, membuktikan bahawa kepelbagaian geografi penanaman teh dapat memberi implikasi terhadap kandungan daun teh tersebut (Rashid et al., 2016).

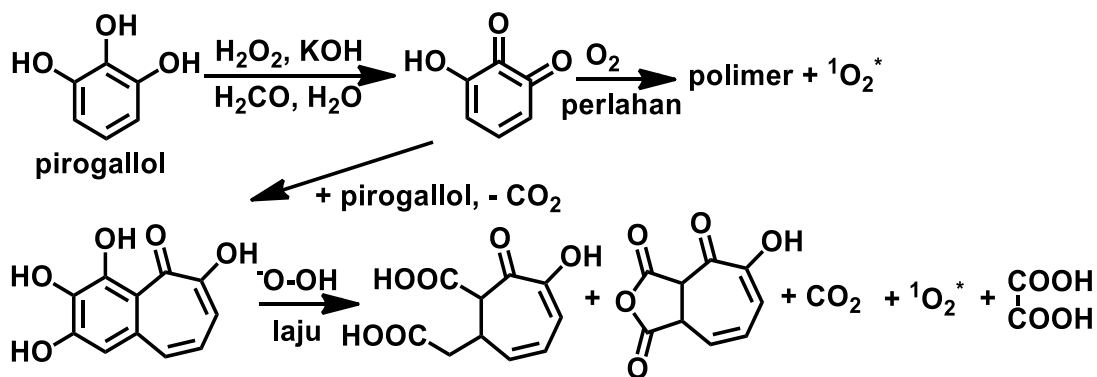
Kajian Muniandy, Shori & Baba (2016) telah menerangkan pelbagai jenis teh yang memberi kesan kepada metabolisme mikrob. Disamping itu, teh hijau juga mempunyai kesan terhadap kesihatan oral, misalnya karies, penyakit periodontal dan halitosis. Hasil penyelidikan mencadangkan bahawa teh hijau dapat membantu mengurangkan aktiviti bakteria di dalam kaviti oral manusia. Dengan ini, kesakitan oral dapat dikurangkan (Khurshid et al., 2016). Pengambilan minuman teh di kalangan individu aktif juga berpotensi untuk mempengaruhi metabolit lemak oksidatif secara mengubah tenaga metabolisme (Sugita et al., 2016). Namun, pengambilan teh secara berlebihan boleh memberi kesan yang tidak diinginkan. Minuman teh berlebihan sebanyak satu cawan atau lebih untuk setiap hari (iaitu teh hijau secara khususnya), mungkin menyumbang faktor risiko secara sederhana dan juga teruk, terhadap penyakit

periodontal di kalangan penduduk dewasa Korea (Han, Hwang & Park, 2016). Sehubungan itu, kekerapan meminum teh perlu dilakukan secara sederhana dan bukannya keterlaluan, untuk mengelakkan dari kemudaratan kesihatan tubuh badan.



Rajah 1 Struktur kimia katechin dan esternya, iaitu katechin gallat

Beberapa parameter boleh dijadikan panduan untuk memaksimumkan kebaikan pengekstrakan teh, seperti suhu, tempoh infusi dan kesan pelarut. Faedah usaha ini dapat memberi satu pendekatan positif di dalam kaedah penghasilan teh. Umumnya, teh direneh mengikut arahan atau label pada bungkusan yang dikeluarkan oleh pengilang teh. Lazimnya, tempoh yang dicadangkan adalah lebih kurang tiga minit di dalam air panas, sebelum ia diminum (Astill et al., 2001). Walau bagaimana pun, penyelidikan yang telah dilakukan di dalam satu keadaan optimum, telah membuktikan bahawa tempoh tiga minit ini tidak mencukupi untuk mengekstrak keseluruhan polifenol (Rajah 1) di dalam air panas. Ini mungkin menyebabkan kajian eksperimen di makmal ke atas kandungan dan kepekatan polifenol atau katechin ini, didapati senantiasa lebih tinggi dari situasi sebenar (Vuong et al., 2012). Oleh itu, pengguna teh tidak memperolehi kesan optimum dari polifenol ketika penyediaan teh dilakukan secara domestik. Satu ujikaji dibuat berdasarkan pemerhatian kualitatif, termasuklah analisis profil kromatografi lapisan nipis dan tindakbalas kemiluminesen sebatian organik di dalam sampel teh (Ishak, 2014). Dengan menggunakan pirogallol (Rajah 2) sebagai larutan piawai untuk eksperimen kromatografi lapisan nipis, kehadiran pirogallol boleh dikesan dari ekstrak pelbagai jenis sampel teh. Untuk tindakbalas kemiluminesen, amaun pirogallol boleh dibandingkan secara kualitatif dengan menggunakan tindakbalas kimia Trautz-Schorigin.



Rajah 2 Tindakbalas Trautz-Schorigin (Sumber: Panzarasa & Sparnacci, 2012)

Katechin-katechin (Rajah 1) di dalam teh ini mempunyai aktiviti antioksidan yang kuat kerana sebatian tersebut boleh mengalihkan radikal bebas. Terdapat beberapa kaedah untuk mengesan kewujudan katechin, ia termasuklah teknik kemiluminesen. Langkah ini tidak memerlukan sebarang sumber cahaya seperti yang diperlukan di dalam assay spektrofotometri dan fluorometri (Arakawa et al., 2002). Pirogallol di dalam sampel teh akan teroksidakan dan oksigen singlet yang teruja akan dihasilkan apabila ia bertindakbalas dengan air, formaldehid, bes (seperti KOH) dan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Apabila oksigen singlet yang teruja ini di dalam keadaan dasar, ia akan mengeluarkan luminasi berwarna merah (Panzarasa & Sparnacci, 2012). Tindakan luminesen ini boleh dijelaskan melalui tindakbalas Trautz-Schorigin (Rajah 2). Intensiti luminesen sampel akan meningkat dengan peningkatan pH (Arakawa et al., 2002). Ini adalah disebabkan oleh kesan antioksidan katechin yang berkadar dengan pembentukan radikal katechin di dalam larutan berbes. Proses disosiasi kumpulan hidroksi atau OH di dalam katekol atau gallol akan menghasilkan radikal  $^{\cdot}\text{O}$ .

## 2.0 METODOLOGI KAJIAN

### 2.1 Pengekstrakan Teh

Terdapat perbezaan di antara sampel-sampel teh seperti yang disenaraikan di dalam Jadual 2. Sampel 1-4 adalah teh biasa iaitu teh yang tidak mengalami proses fermentasi, berbanding dengan teh hitam (sampel 9-12). Setiap jenis teh diekstrak menggunakan 50 ml metanol. Tempoh pengekstrakan diseragamkan selama 10 minit. Langkah tersebut juga diubahsuai, di mana setiap jenis teh akan melalui kaedah (1-10) seperti yang disenaraikan di dalam Jadual 3.

Jadual 2 Sampel yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak teh

Jenis Teh	No	Sampel	Asal
Teh	1.	Teh Lembah Cameron	Cameron Highland
	2.	Teh Corson, Estate of Mauritius dengan tambahan vanilla	Mauritius
	3.	Teh Tulen Ceylon BonTea	Sri Lanka
	4.	Teh Darjeeling Fortnum & Mason	Tidak dinyatakan
Teh hijau	5.	Teh Hijau Cane	China
	6.	Teh Hijau Tulen Twinings	Tidak dinyatakan
	7.	Teh Hijau Teratai Twinings	Tidak dinyatakan
	8.	Teh Hijau Earl Grey Twinings	Tidak dinyatakan
Teh hitam	9.	Teh Hitam Sabah	Sabah
	10.	Teh Hitam Tanpa Kafein Lipton	Malaysia
	11.	Teh Hitam Sarapan Lipton	Malaysia

	12.	Teh Hitam Sarapan English	Malaysia
Camellia sinensis dengan pelbagai perasa	13.	Biofield ( <i>Camellia sinensis</i> dan <i>Citrus hystrix</i> )	Malaysia
	14.	Twinnings (Teh Hijau dan Lemon)	Tidak dinyatakan
	15.	Cameron Valley ( <i>Camellia sinensis</i> Perasa Strawberi)	Cameron Highland
	16.	Lipton Teh Hitam Perasa Bergamot Earl Grey	Malaysia
	17.	Twinnings Earl Grey Perasa Bergamot	Tidak dinyatakan
<i>Cymbopogon citratus</i>	18.	Teh Serai Perasa Pandan Wangi Kzanah	Malaysia
<i>Pandanus amaryllifolius</i>	19.	Teh Pandan Wangi	Thailand
<i>Chamaemelum nobile</i>	20.	Teh Kamomil (Kamille Mild Aromatish)	Holland
Infusi buah - buahan	21.	Mandarin & Laici Twinnings	Tidak dinyatakan
	22.	Grapefruit, Mandarin & Limau Twinnings	Tidak dinyatakan

**Jadual 3 Kaedah pengekstrakan sampel teh**

No.	Kaedah
1	1 beg teh + 30 ml metanol
2	2 beg teh + 30 metanol
3	30 ml metanol + haba (80°C)
4	30 ml metanol + 2 titik HCl (37%)
5	30 ml metanol + haba (80°C) + 2 titik HCl (37%)
6	30 ml metanol + kepingan ais
7	30 ml etanol + 2 titik HCl (37%)
8	30 ml metanol (selama 1 minggu)
9	30 ml metanol + 2 titik HCl (37%) (selama 1 minggu)
10	30 ml etanol + 2 titik HCl (37%) (selama 1 minggu)

## 2.2 Kromatografi Lapisan Nipis Untuk Ekstrak Teh

Setiap alikuot (10 µl) sampel diletakkan di atas plat gel silika. Sistem pelarut (fasa bergerak) terdiri daripada klorofom-metanol-asid asetik (90:10:1). Eksperimen ini dilakukan dalam suhu bilik. Titik kromatografi diperhatikan dengan semburan reagen anisaldehyd (Krumholz & Bryant, 1986; Sharma, Bhat & Singh, 1998). Selepas semburan tersebut, plat kelihatan berwarna merah jambu yang bertukar kepada warna pic. Selepas plat dipanaskan, reagen dengan pantas bertindakbalas dengan fenolik (yang mempunyai kumpulan hidroksi yang berjiran) seperti katechin, epikatechin (Rajah 1), asid gallik dan pirogallol (Rajah 2), untuk menghasilkan titik berwarna merah jambu gelap atau kemerahan. Warna yang kontras di antara latar belakang plat dan titik sebatian membuatkan ia mudah untuk dikesan (Sharma et al., 1998).

## 2.3 Tindakbalas Trautz-Schorigin

Setiap sampel teh diekstrak dengan 50 ml air panas di dalam bikar. Tempoh pengekstrakan diseragamkan selama 10 minit. Formaldehid (37%) dan 20 g sodium karbonat ditambah. Campuran tersebut dibiarkan sejuk pada suhu bilik. Kemudian, 50 ml larutan dipindahkan ke bikar kosong. Seterusnya, intensiti luminesen diperhatikan di dalam sebuah kotak hitam, selepas penambahan 3% hidrogen peroksida cair. Tempoh luminesen diperhatikan di dalam suhu bilik. Tempoh dan intensiti yang lebih lama mencadangkan kewujudan amaun pirogallol yang lebih tinggi di dalam sampel teh tersebut.

### 3.0 HASIL KAJIAN

#### 3.1 Kromatografi Lapisan Nipis Untuk Ekstrak Teh

Eksperimen telah melibatkan semua sampel (Jadual 4). Hampir kesemua keputusan ditandakan dengan X bagi menunjukkan tiada kehadiran pirogallol dalam sampel tersebut. Pirogallol telah dikesan dari ekstrak Teh Hijau Teratai Twinings. Dari kromatografi lapisan nipis, nilai indeks refraktif direkodkan (Rajah 3,  $R_f = 0.4$ ). Prosedur pengekstrakan untuk semua sampel juga diubahsuai kepada beberapa kaedah (Jadual 3). Misalnya, pelarut metanol telah ditukar kepada etanol. Ini adalah kerana etanol juga merupakan pelarut organik berkutub, yang digunakan untuk mengekstrak fenolik. Walau bagaimanapun, di dalam ujikaji ini, tiada pirogallol yang dapat dikesan, sama ada di dalam ekstrak metanol atau etanol. Katechin sepatutnya mudah diekstrak dari akuis etanol (misalnya 50% etanol), bukannya absolut etanol, seperti yang dilaporkan (Hu et al., 2016). Tempoh pengekstrakan juga ditetapkan selama 10 minit untuk kedua-dua pelarut tersebut.

Sampel juga didedahkan dengan haba dan kepingan ais (kaedah 3 dan 6, Jadual 3). Suhu tinggi boleh menghasilkan polifenol dengan lebih banyak, berbanding dengan suhu rendah (Lin, Liu & Mau, 2008). Ais digunakan kerana beberapa pengeluaran teh mencadangkan penggunaan air sejuk, bukan sekadar air panas, untuk pembikinan teh. Misalnya Teh Lemon Beras Lipton, mengesyorkan agar teh diminum dengan air sejuk. Tambahan pula, bilangan beg teh untuk mengekstrak fenolik juga dikaji untuk membandingkan kehadiran pirogallol. Nisbah daun teh terhadap air juga berperanan ketika membandingkan kehadiran pirogallol. Penambahan nisbah daun teh terhadap amaun pelarut boleh mengurangkan amaun ekstrak berikutan dari sifat keterlarutan sebatian teh. Namun, pirogallol tidak dikesan di dalam kedua-dua kaedah.

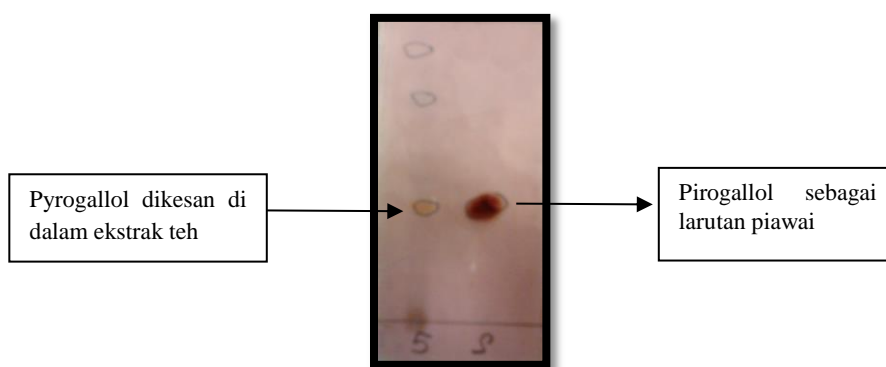
Sampel juga diuji dengan penambahan asid, termasuklah asid hidroklorik, HCl. Pirogallol tidak dapat dikesan dalam kebanyakan sampel kecuali Teh Hijau Teratai Twinings. Keputusan kromatografi di dalam Rajah 3 menunjukkan titik selepas sampel diekstrak selama 1 minggu. Titik ini dicadangkan sebagai sebatian piawai pirogallol kerana nilai  $R_f$  nya menyerupai nilai  $R_f$  pirogallol. Penambahan asid mungkin juga signifikan untuk pemusnahan ikatan katechin seperti epikatechin (EC), epikatechin gallat (ECG), epigallokatechin (EGC), epigallokatechin gallat (EGCG), gallokatechin gallat (GCG) (Rajah 1) yang menghasilkan pirogallol. Di samping itu, sampel menjadi lebih pekat selepas dibiarkan. Faktor ini juga menyumbang kepada pengesanan pirogallol.

**Jadual 4 Kromatografi lapisan nipis untuk pelbagai ekstrak teh**

Jenis Teh	No	Sampel	Kaedah (Jadual 3)									
			1 beg teh									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Teh	1.	Teh Lembah Cameron	X	X	X	X	X	X		X	X	
	2.	Teh Corson, Estate of Mauritius dengan tambahan vanilla	X	X	X	X	X	X		X	X	
	3.	Teh Tulen Ceylon BonTea				X	X				X	
	4.	Teh Darjeeling Fortnum&Mason				X		X	X		X	X
Teh hijau	5.	Teh Hijau Cane	X	X		X	X	X	X	X	X	X
	6.	Teh Hijau Tulen Twinings	X	X			X					
	7.	Teh Hijau Teratai Twinings				X						✓
	8.	Teh Hijau Earl Grey Twinings							X			X
Teh hitam	9.	Teh Hitam Sabah	X	X			X	X		X		
	10.	Teh Hitam Tanpa Kafein Lipton							X			X
	11.	Teh Hitam Sarapan Lipton							X			X
	12.	Teh Hitam Sarapan English	X			X					X	
<i>Camellia</i>	13.	Biofield ( <i>Camellia sinensis</i> dan	X	X		X	X	X		X	X	

<i>sinensis</i> dengan pelbagai perasa	<i>Citrus hystrix</i>									
	14.	Twinings (Teh Hijau dan Lemon)							X	
15.	Cameron Valley ( <i>Camellia sinensis</i> Perasa Strawberi)			X	X	X			X	
16.	Lipton Teh Hitam Perasa Bergamot Earl Grey							X		X
17.	Twinings Earl Grey Perasa Bergamot	X			X				X	
<i>Cymbopogon citratus</i>	18.	Teh Serai Perasa Pandan Wangi Kzanah						X		X
<i>Pandanus amaryllifolius</i>	19.	Teh Pandan Wangi				X	X	X		X
<i>Chamaemelum nobile</i>	20.	Teh Kamomil (Kamille Mild Aromatish)				X	X	X		X
Infusi buah - buahan	21.	Mandarin & Laici Twinings						X	X	X
	22.	Grapefruit, Mandarin & Limau Twinings							X	X

X = Pirogallol tidak dikesan, ✓ = Kehadiran pirogallol dikesan



**Rajah 3 Kromatografi lapisan nipis ekstrak Teh Hijau Teratai Twinings, dengan menggunakan pirogallol sebagai sebatian piawai. Nilai  $R_f$  sampel adalah menghampiri nilai piawai**

Selain daripada pengekstrakan pada suhu bilik, kaedah eksperimen ini juga melibatkan penambahan suhu terhadap larutan teh. Teknik yang menggunakan air panas menghasilkan ekstrak yang berkapasiti antioksidan yang tinggi kerana lebih banyak fenolik dapat diekstrak, berbanding dengan penggunaan air sejuk. Pelarut telah direneh bersama beg teh sehingga suhu mencapai 80°C. Langkah berjaga-jaga turut diambil kerana metanol diguna sebagai pelarut. Antaranya, pengekstrakan dilakukan di dalam kebuk wasap serta pakaian kot keselamatan makmal digunakan. Dari keputusan, pengekstrakan pirogallol dari sampel teh agak sukar, termasuklah dari sampel teh hijau yang diketahui mengandungi amaun sebatian fenolik yang lebih tinggi. Situasi ini disokong oleh pendapat Panzarasa et al. (2012) yang menyatakan pirogallol merupakan sebatian yang tidak stabil di dalam air. Tambahan pula, fenolik yang lain turut mengalami pengoksidaan auto atau pengoksidaan secara langsung yang boleh menghalang pengesanan pirogallol (Panzarasa et al., 2012).

### 3.2 Tindakbalas Trautz-Schorigin

Kaedah ini melibatkan tiga jenis teh hijau, termasuklah teh hijau China (no. 5 hingga 8, Jadual 2 dan 4). Intensiti luminesen sampel tersebut adalah hampir sama. Tindakbalas dilakukan di dalam kotak hitam,

berbanding dengan bilik gelap. Warna sampel bertukar dari kuning cair kepada coklat gelap selepas penambahan bes (37% formaldehid dan 20 g sodium karbonat). Apabila 50 ml 3% hidrogen peroksida ditambah kepada 50 ml larutan tersebut, warna berubah dari coklat gelap kepada merah gelap. Namun, intensiti luminesen sangat rendah dan seketika (kurang dari 5 saat). Larutan berwarna merah menunjukkan sampel mengandungi oksigen berkeadaan singlet yang teruja. Rajah 2 menunjukkan tindakbalas berlaku selepas penambahan larutan bes atau asid. Sumber oksigen singlet yang teruja dalam teh mungkin berpunca dari katechin, terutamanya pirogallol. Apabila oksigen berkeadaan singlet yang teruja itu kembali kepada keadaan dasar, ia mengeluarkan tenaga yang menghasilkan luminesen berwarna merah.

Selain daripada ujikaji yang melibatkan pelbagai jenama teh, bilangan sampel beg teh juga turut diambil kira, berbanding dengan penggunaan hanya satu beg yang diekstrak. Keputusan menunjukkan dua beg atau uncang teh menghasilkan intensiti warna merah yang lebih tinggi berbanding penggunaan satu beg. Ini adalah kerana kepekatan katechin adalah lebih tinggi di dalam sebilangan beg teh. Menurut Panzarasa et al. (2012), paraformaldehid digunakan berbanding formaldehid pekat yang menghasilkan intensiti luminesen yang terang seketika. Namun, formaldehid pekat digunakan di dalam kajian ini. Apabila formaldehid (97%) diguna, ia mungkin menghasilkan kristal polimer, iaitu paraformaldehid. Oleh itu, isipadu formaldehid diubahsuai kepada 15, 20 dan 25 ml untuk memberi kesetaraan kepekatan terhadap paraformaldehid. Malangnya, meter dan kertas pH tidak diguna untuk menyeragamkan keadaan pH. Sehubungan itu, luminesen yang terang tidak dapat diperhatikan.

#### 4.0 KESIMPULAN

Dari kromatografi lapisan nipis, kehadiran pirogallol dalam teh hijau menunjukkan ia mempunyai kandungan sebatian fenolik. Namun, perbandingan fenolik dari teh hijau dan teh hitam belum dapat diyakini sepenuhnya kerana pirogallol dikesan hanya dari satu jenis teh hijau sahaja. Kehadiran pirogallol ini mungkin juga disebabkan infusi teratai dalam teh hijau tersebut dan bukan daripada teh hijau itu sendiri. Sementara itu, menurut literatur, amaun fenolik yang lebih tinggi menunjukkan kapasiti antioksidan yang lebih tinggi. Banyak faktor yang boleh mengundang keberadaan sebatian fenolik dalam teh misalnya, faktor pelbagai jenis fermentasi, kaedah renihan, infusi perisa buah-buahan, dan penambahan susu ke dalam minuman teh. Di samping itu, teh hijau mempunyai kebolehan untuk menghasilkan luminesen apabila kaedah dan keadaan makmal yang terkawal misalnya, penggunaan bahan kimia yang bersesuaian. Warna merah menunjukkan kehadiran spesies oksigen singlet yang teruja, yang dihasilkan oleh katechin atau pirogallol. Kehadiran warna mencadangkan intensiti luminesen yang rendah dikeluarkan, walaupun ia tidak dapat dikesan di dalam kotak hitam. Namun, berdasarkan eksperimen yang dijalankan, kehadiran sebatian fenolik (pirogallol) hanya terhad kepada jenis teh hijau tertentu sahaja.

#### Penghargaan

Penghargaan ditujukan kepada Fakulti Farmasi, Universiti Teknologi MARA, Puncak Alam, Selangor.

#### Rujukan

Aoshima, H., Hirata, S. & Ayabe, S. (2007). Antioxidative and anti-hydrogen peroxide activities of various herbal teas. *Food Chemistry*, 103(2), 617–622.



- Arakawa, H., Kanemitsu, M., Tajima, N. & Maeda, M. (2002). Chemiluminescence assay for catechin based on generation of hydrogen peroxide in basic solution. *Anal. Chimica Acta*, 472(1–2), 75–82.
- Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., & Martin, P. T. (2001). Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5340–5347.
- Carlioni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customu, C., Kay, A., & Damiani, E. (2013). Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar. *Food Research International*, 53(2), 900–908.
- Han, K., Hwang, E., Park, J. B. (2016). Excessive consumptions of green tea as a risk factor for periodontal disease among Korean adults. *Nutrients Journal*, 8, 408-717.
- Hu, C.-J., Gao, Y., Liu, Y., Zheng, X.-Q., Ye, J.-H., Liang, Y.-R., & Lu, J.-L. (2016). Studies on the mechanism of efficient extraction of tea components by aqueous ethanol. *Food Chemistry*, 194(1), 312-318.
- Ishak, N. I. L. (2014). *The Detection of Pyrogallol in Different Types of Tea* (Doctoral Thesis). Fakulti Farmasi, Universiti Teknologi MARA, Malaysia.
- Khurshid, Z., Zafar, M. S., Zohaib, S., Najeeb, S. & Naseem, M. (2016). Green Tea (*Camellia Sinensis*): Chemistry and Oral Health. *The Open Dentistry Journal*, 10(Suppl-1, M3), 166-173.
- Krumholz, L. R., & Bryant, M. P. (1986). Eubacterium oxidoreducens sp. nov. requiring H<sub>2</sub> or formate to degrade gallate, pyrogallol, phloroglucinol and quercetin. *Archives of Microbiology*, 144(1), 8–14.
- Li, Y. F., Ouyang, S. H., Chang, Y.Q, Wang, T. M., Li, W. X., Tian, H. Y., Cao, H., Kurihara, H. & He, R. R. (2017). A comparative analysis of chemical compositions in *Camellia sinensis* var. *puanensis* Kurihara, a novel Chinese tea, by HPLC and UFLC-Q-TOF-MS/MS. *Food Chem.*, 216(1), 282–288.
- Lin, Y.-L., Juan, I.-M., Chen, Y.-L., Liang, Y.-C., & Lin, J.-K. (1996). Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *J. of Agric. and Food Chemistry*, 44(6), 1387–1394.
- Lin, S.-D., Liu, E.-H., & Mau, J.-L. (2008). Effect of different brewing methods on antioxidant properties of steaming green tea. *LWT - Food Science and Technology*, 41(9), 1616–1623.
- Muniandy, P., Shori, A. B., Baba, A. S. (2016). Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage, *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 1-8.
- Oh, J., Jo, H., Cho, A. R., Kim, S.-J. & Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. *Food Control*, 31(2), 403–409.
- Panzarasa, G. & Sparnacci, K. (2012). Glowing teacup demonstration: Trautz–Schorigin reaction of natural polyphenols, *J. Chem. Educ.*, 89(10), 1297–1300.

- Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F., & Grüner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96(4), 597-605.
- Rashid, M. H., Chowdhury, M. A. Z., Fardous, Z., Tanvir, E. M., Pramanik, M. K., Jahan, I., Alam, M. K., Moniruzzanab, M. & Gan, S. H. (2016). Microbial decontamination of gamma irradiated black tea and determination of major minerals in black tea, fresh tea leaves and tea garden soil. *Food Science and Technology Journal*, 73, 185-190.
- Ryan, L. & Petit, S. (2010). Addition of whole, semi skimmed, and skimmed bovine milk reduces the total antioxidant capacity of black tea. *Nutrition Research*, 30(1), 14–20.
- Safdar, N., Sarfaraz, A., Kazmi, Z. & Yasmin, A. (2016). Ten different brewing methods of green tea: comparative antioxidant study. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 4(3), 33-40.
- Sharangi, A. B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. *Food Research International*, 42(5–6), 529–535.
- Sharma, O. P., Bhat, T. K., & Singh, B. (1998). Thin-layer chromatography of gallic acid, methyl gallate, pyrogallol, phloroglucinol, catechol, resorcinol, hydroquinone, catechin, epicatechin, cinnamic acid, p-coumaric acid, ferulic acid and tannic acid. *Journal of Chromatography A*, 822(1), 167–171.
- Sugita, M., Kapoor, M. P., Nishimura, A., Okubo, T. (2016). Influence of green tea catechins on oxidative stress metabolites at rest and during exercise in healthy humans. *Nutrition*, 32(3), 321–331.
- Vuong, Q. V., Tan, S. P., Stathopoulos, C. E., & Roach, P. D. (2012). Improved extraction of green tea components from teabags using the microwave oven. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(1), 95–101.
- Wu, C., Xu, H., Héritier, J., & Andlauer, W. (2012). Determination of catechins and flavonol glycosides in Chinese tea varieties. *Food Chemistry*, 132(1), 144–149.
- Zhang, Y., Li, Q., Xing, H., Lu, X., Zhao, L., Qu, K., & Bi, K. (2013). Evaluation of antioxidant activity of ten compounds in different tea samples by means of an on-line HPLC–DPPH assay. *Food Research International*, 53(2), 847–856.