

PENGARUH SUHU PENYIMPANAN DAN PROPORSI TEH HIJAU: BUBUK DAUN KERING STEVIA (*Stevia rebaudiana*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN TEH HIJAU STEVIA DALAM KEMASAN BOTOL PLASTIK

*(Effect of storage temperature and proportion of green tea: stevia dried leaf powder (*Stevia rebaudiana*) on antioxidant activity of green tea stevia beverage in plastic bottle packaging)*

Nerissa Arviana Tristanto^{a*}, Tarsisius Dwi Wibawa Budianta^a, Adrianus Rulianto Utomo^a

^a Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

*Penulis korespondensi
Email: nerissaarviana95@gmail.com

ABSTRACT

Tea is a product that is often consumed with hot brewed and drink with the addition of sugar. Aternative substitution for sucrose is stevia sweetener. Green tea stevia beverages will be packaged in PET plastic into ready to drink products. This research is done to determine the effect of storage temperature and proportion of green tea: stevia dried leaf powder (*Stevia rebaudiana*) on antioxidant activity of green tea stevia beverage in plastic bottle packaging. The design of the study is a Randomized Block Design (RBD) factorial design with two factors. Factors that will be examined are differences in proportion of green tea stevia dried leaves powder which consist of five levels (100:0, 92:8, 84:16, 76:24, and 68:32 (w/w) in one gram sample) and storage temperature consists of two levels (refrigerator temperature (4-5°C) and room temperature (25-27°C)). The result showed that there where difference effect of total phenol, total flavonoid, DPPH free radical scavenging activity, iron ion reducing power on green tea stevia beverage. Total phenols, total flavonoids, iron ion reducing power, and DPPH Free Radical Scavenging Activity are 70.24-130.60 mg GAE/100 ml; 10.28-14.25 mg CE/100 ml; 27.38-95.24 mg GAE/100 ml; and 77.73-91.99 %. Total phenols, total flavonoids, iron ion reducing power, and DPPH Free Radical Scavenging Activity during storage at room temperature are 6.9759.71 mg GAE/100 ml; 2.71-10.44 mg CE/100 ml; 2.09-37.91 mg GAE/100 ml; and 38-65.84 %. Total phenols, total flavonoids, iron ion reducing power, and DPPH Free Radical Scavenging Activity during storage at refrigerator temperature are 28.13-104.13 mg GAE/100 ml; 4.95-42.56 mg CE/100 ml; 2.09-37.91 mg GAE/100 ml; and 42.52-70.63 %.

Keywords: green tea, stevia, storage, total phenol, total flavonoid, DPPH free radical scavenging activity, iron ion reducing power

ABSTRAK

Teh merupakan produk yang seringkali dikonsumsi dengan cara diseduh dan diminum dengan penambahan gula. Alternatif pengganti sukrosa adalah pemanis stevia. Minuman teh hijau stevia akan dikemas pada kemasan plastik PET menjadi produk *ready to drink*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan dan proporsi teh hijau: bubuk daun kering stevia terhadap aktivitas antioksidan minuman teh hijau stevia dalam kemasan botol plastik. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) desain faktorial dengan dua faktor, yaitu perbedaan proporsi teh hijau: bubuk kering daun stevia yang terdiri dari lima taraf perlakuan (100:0, 92:8, 84:16, 76:24, dan 68:32 (b/b) dalam satu gram sampel), serta suhu penyimpanan yang terdiri dari dua taraf (suhu refrigerator (4-5°C) dan suhu ruang (25-27°C)). Hasil penelitian menunjukkan interaksi antara proporsi teh hijau:stevia dan suhu penyimpanan memberikan perbedaan pada penurunan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, kemampuan mereduksi ion besi, total fenol, dan total flavonoid. Kadar

total fenol, total flavonoid, kemampuan mereduksi ion besi dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH awal adalah 70,24-130,60 mg GAE/100 ml; 10,28-14,25 mg CE/100 ml; 27,3895,24 mg GAE/100 ml; dan 77,73-91,99 %. Kadar total fenol, total flavonoid, kemampuan mereduksi ion besi, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH akhir pada penyimpanan suhu ruang adalah 6,97-59,71 mg GAE/100 ml; 2,71-10,44 mg CE/100 ml; 2,09-37,91 mg GAE/100 ml; dan 38-65,84 %. Kadar total fenol, total flavonoid, kemampuan mereduksi ion besi, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH akhir pada penyimpanan suhu refrigerator adalah 28,13-104,13 mg GAE/100 ml; 4,95-42,56 mg CE/100 ml; 2,09-37,91 mg GAE/100 ml; dan 42,52-70,63 %.

Kata kunci: teh hijau, stevia, penyimpanan, total fenol, total flavonoid, kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, kemampuan mereduksi ion besi

PENDAHULUAN

Teh merupakan salah satu jenis minuman fungsional yang sangat populer di dunia karena mengandung antioksidan alami, yaitu senyawa flavonoid (Ananda, 2009). Teh hijau merupakan teh yang berasal dari pucuk daun teh yang tidak melalui proses fermentasi, sehingga masih mengandung katekin yang relatif tinggi (Karina, 2008). Teh merupakan produk yang seringkali dikonsumsi dengan cara diseduh dan diminum dengan penambahan gula. Konsumsi sukrosa secara terus menerus dikhawatirkan dapat meningkatkan kadar gula dalam darah dan meningkatkan prevalensi penderita diabetes melitus tipe II. Kesadaran konsumen akan kesehatan yang semakin meningkat menyebabkan terjadi pergeseran konsumsi gula dari pemanis berkalori ke pemanis non kalori atau kalori rendah, yaitu pemanis sintesis. Pemanis sintesis yang diproses secara kimiawi memiliki kelemahan karena adanya hasil metabolisme yang bersifat karsinogenik. Alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi kedua permasalahan tersebut adalah penggunaan bahan pemanis alami, salah satunya adalah stevia.

Pemanis stevia merupakan pemanis alami yang diekstrak dari daun *Stevia rebaudiana* (Berton). Pemanis stevia memiliki tingkat kemanisan mencapai 200-300 kali lebih tinggi dibandingkan sukrosa. Beberapa keunggulan dari pemanis stevia yaitu bersifat non karsinogenik, memiliki nilai kalori rendah yang cocok bagi penderita diabetes, memiliki sifat

antimikroba dan antidiabetik, serta memiliki senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa fitokimia yang terdapat pada stevia adalah alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida (Yustika, 2015). Senyawa fitokimia berperan sebagai antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas dan mencegah amplifikasi senyawa radikal dengan menetralkan radikal bebas yang terbentuk selama oksidasi.

Minuman teh hijau dengan penambahan pemanis stevia akan dikemas dalam botol plastik sehingga menjadi produk yang *ready to drink*. Produk minuman teh hijau stevia dikemas dalam botol PET dengan teknik *hot filling*. Faktor yang digunakan dalam penelitian ini adalah proporsi bubuk daun stevia: teh hijau dan suhu penyimpanan. Proporsi bubuk daun stevia:teh hijau yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0:100, 8:92, 16:84; 24:76; 32:68 (b/b) dalam satu gram sampel. Perlakuan ini diperoleh dari hasil uji threshold sebagai uji pendahuluan. Diperoleh *Absolute Threshold* sebesar 0,13% dan *Difference Threshold* sebesar 0,39%. Perlakuan suhu penyimpanan yang digunakan terdiri dari dua taraf perlakuan, yaitu suhu ruang dan suhu refrigerator. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh proporsi bubuk daun teh hijau: bubuk daun kering stevia dan suhu penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan pada minuman teh hijau stevia dalam kemasan botol plastik. Kandungan antioksidan pada masing-masing perlakuan akan dilihat perubahannya secara berkala

(setiap satu minggu) selama satu bulan untuk mengetahui pola perubahan pada aktivitas antioksidannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan minuman teh hijau stevia dalam kemasan adalah daun teh hijau kering (didapat dari PT. Rolas Nusantara Mandiri Surabaya), daun stevia kering (didapat dari Toko Herbal Semarang, Jl. Menangeng, Kudu, Genuk, Kota Semarang, Jawa Tengah), air minum galon (pH=7), kertas timbang, *tea bag* (Daisoo), kemasan PET 100 ml. Bahan untuk analisa adalah Natrium Hidroksida (Merck), Aquades, Aquabides, Metanol (Merck), Asam Galat (Sigma), Folin Ciocalteu (Merck), 2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma), Natrium Karbonat (Na_2CO_3) (SAP Chemical), Ferri Klorida (FeCl_3), (+)-Katekin (Sigma), Natrium Nitrit (NaNO_2) (Merck), Aluminium Klorida (AlCl_3) (Schuchardt OHG), Natrium Fosfat (NaH_2PO_4) (Sigma-Aldrich), Dinatrium Fosfat (Na_2HPO_4) (Merck), Kalium Ferrisianida (Merck), *Trichloroacetic Acid* (TCA), Aluminium Foil, dan Tissue.

Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) desain faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu perbedaan proporsi bubuk daun teh hijau:stevia yang terdiri dari 5 (lima) taraf adalah 100:0, 92:8, 84:16; 76:24; 68:32 (b/b), serta suhu penyimpanan minuman teh hijau stevia dalam kemasan yang terdiri dari 2 (dua) taraf yaitu suhu refrigerator (4-5°C) dan suhu ruang (25-27 °C). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan pengujian sebanyak 3 (tiga) kali. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisa secara statistik dengan

menggunakan metode ANOVA (*Analysis Of Variance*) pada $\alpha = 5\%$ untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nyata pada setiap perlakuan yang diuji. Hasil uji ANOVA akan dilanjutkan dengan uji beda jarak nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha=5\%$ jika hasil tersebut menunjukkan perbedaan nyata.

Pembuatan Minuman Teh Hijau Stevia dalam Kemasan

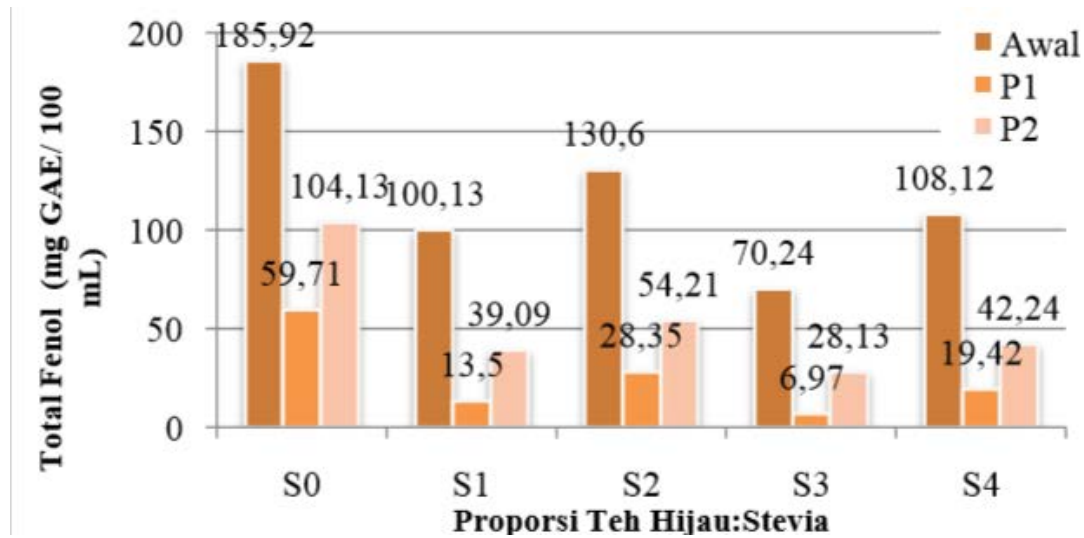
Dilakukan pembレンダーan daun stevia kering terlebih dahulu agar menjadi bubuk. Selanjutnya, dilakukan penimbangan sesuai dengan formulasi masing-masing perlakuan. Total penimbangan sampel gabungan dari teh hijau dan stevia untuk setiap satu unit percobaan adalah sebanyak 1 g. Teh hijau dan stevia ditimbang dengan berbagai proporsi (1:0;0,92:0,08; 0,84:0,16; 0,76:0,24; 0,68:0,32). Teh hijau dan bubuk daun stevia yang telah dimasukkan ke dalam *tea bag* diseduh dalam air panas pada suhu 90°C selama 3 menit. Minuman teh hijau stevia yang telah diseduh didinginkan hingga suhu 80°C dan selanjutnya diisikan ke dalam kemasan PET secara *hot filling*. Kemasan PET yang digunakan telah disterilisasi terlebih dahulu dengan sinar UV.

Metode Analisa

Analisa minuman teh hijau stevia terhadap aktivitas antioksidan, meliputi kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, kemampuan mereduksi ion besi, total fenol, dan total flavonoid.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Polifenol dalam teh dan stevia dapat bertindak sebagai senyawa bioaktif karena memiliki gugus hidroksil. Fenol memiliki sifat yang cenderung asam, sehingga senyawa tersebut cenderung mudah melepaskan ion H^+ dari gugus hidroksilnya (-OH).



Keterangan: S0= teh hijau: stevia 100:0; S1=teh hijau: stevia 92:8; S2= teh hijau: stevia 84:16; S3= teh hijau: stevia 76:24; S4= teh hijau: stevia 68:32 P1= Penyimpanan suhu ruang selama 30 hari, P2= Penyimpanan suhu *refrigerator* selama 30 hari

Gambar 4.1. Hasil Pengujian Total Fenol Awal dan Akhir Minuman Teh Hijau Stevia

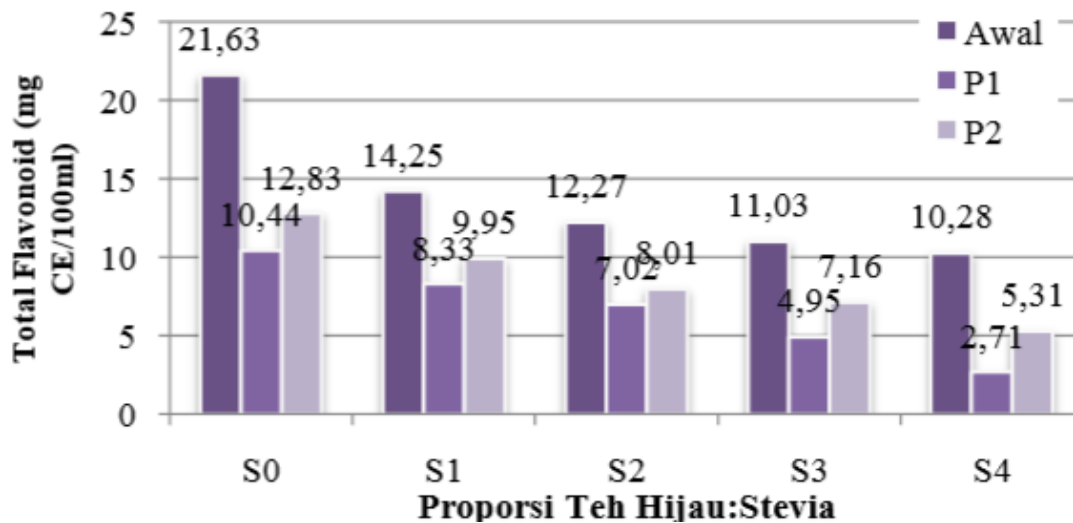
Senyawa fenol mampu mereduksi senyawa radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya kepada oksigen singlet dan kemudian fenol akan teroksidasi menjadi radikal fenoksi yang stabil. Radikal fenoksi merupakan senyawa yang relatif stabil karena akan terjadi resonansi pada cincin fenolik, sehingga radikal tersebut tidak membentuk radikal bebas baru, melainkan radikal fenolik dapat bereaksi dengan radikal bebas lain untuk menghentikan reaksi berantai (Xu, 2012). Oleh karena itu, senyawa fenolik dapat dikategorikan sebagai antioksidan primer. Kandungan total fenol awal dan akhir pada minuman teh hijau stevia pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa dengan penambahan berbagai konsentrasi stevia akan menurunkan total fenolnya. Proporsi teh hijau : stevia 100:0 memiliki total fenol yang paling tinggi dibandingkan perlakuan yang lain. Semakin banyaknya stevia yang ditambahkan maka akan mengurangi jumlah teh hijau yang terdapat pada minuman teh hijau stevia. Komponen fenolik utama yang terdapat dalam minuman teh hijau stevia adalah katekin. Epigalokatekin galat merupakan senyawa

aktif yang terdapat pada teh hijau yang memiliki delapan gugus hidroksil dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi (Gramza, 2005). Semakin sedikit jumlah teh hijau dalam proporsi maka akan mengurangi jumlah katekin yang ada, sehingga jumlah total fenolnya menjadi semakin berkurang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada daun stevia tidak mengandung komponen fenolik yang sebanding jumlah dan aktivitasnya dengan komponen fenolik yang terdapat pada teh hijau, sehingga terjadi penurunan total fenol.

Pada Gambar 4.1. dapat dilihat bahwa terjadi penurunan total fenol akhir yang disimpan pada suhu ruang dan suhu *refrigerator* dibandingkan dengan total fenol awal. Selama penyimpanan pada kedua suhu, terutama pada suhu ruang dimungkinkan terjadi perubahan- perubahan kimiawi terutama pada aktivitas senyawa sebagai antioksidan. Kandungan total fenol dapat menurun selama penyimpanan karena terjadinya reaksi polimerisasi dan degradasi.

Stabilitas dari polifenol selama penyimpanan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor eksternal, yaitu udara, suhu penyimpanan, dan cahaya (Siah, 2011).



Keterangan: S0= teh hijau: stevia 100:0; S1=teh hijau: stevia 92:8; S2= teh hijau: stevia 84:16; S3=teh hijau: stevia 76:24; S4= teh hijau: stevia 68:32 P1= Penyimpanan suhu ruang selama 30 hari, P2= Penyimpanan suhu *refrigerator* selama 30 hari

Gambar 4.2. Hasil Pengujian Total Flavonoid Awal dan Akhir Minuman Teh Hijau Stevia

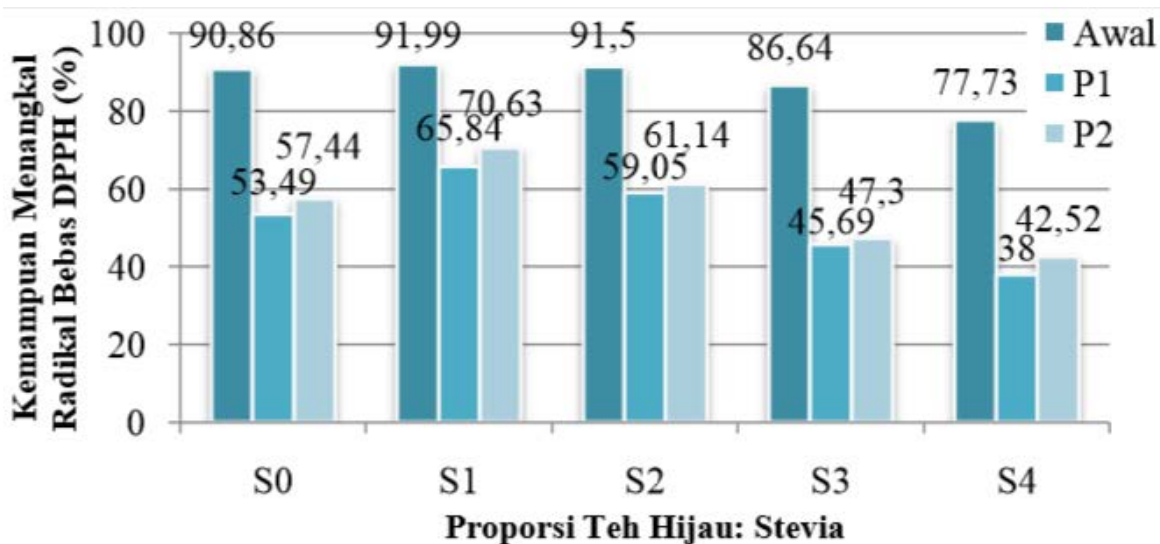
Flavonoid dapat menstabilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dengan bereaksi dengan komponen radikal bebas yang reaktif. Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan mencegah terbentuknya radikal bebas dan mengkelat (Pourmorad, 2006). Efek antioksidan senyawa flavonoid disebabkan oleh adanya penangkapan radikal bebas melalui donor proton hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid (Amic *et al.*, 2003). Aktivitas antioksidan pada flavonoid terutama dipengaruhi substitusi gugus hidroksi pada posisi orto dan para terhadap gugus OH dan OR.

Flavonoid dapat berada dalam bentuk bebas (aglikon) dan glikosida (Martinez, 2070). Stevia mengandung delapan macam steviol glikosida. Komponen gula yang terdapat dalam stevia berada dalam keadaan terikat dengan komponen flavonoid, sehingga keadaan ini menyebabkan gugus OH berada dalam keadaan tidak bebas dan menurunkan kemampuannya dalam menangkal dan mengkelat radikal bebas. Secara umum, flavonoid dalam teh hijau banyak berada dalam bentuk aglikon dan turunan glikosida (Formagio, 2014).

Flavonoid yang berada dalam bentuk aglikon memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Total flavonoid awal dan akhir pada minuman teh hijau stevia dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Total flavonoid awal pada minuman teh hijau stevia berkisar antara 10,28-14,25 mg CE/100 ml sampel. Total flavonoid akhir pada penyimpanan suhu ruang selama 30 hari berkisar antara 2,71-10,44 mg CE/100 ml sampel, sedangkan total flavonoid akhir pada penyimpanan suhu *refrigerator* selama 30 hari berkisar antara 5,31-12,83 mg CE/100ml.

Penurunan total flavonoid pada minuman teh hijau stevia disebabkan karena flavonoid mampu membentuk polimer yang lebih besar selama penyimpanan. Katekin merupakan monomer dan ketika dilakukan penyimpanan akan mengalami oksidasi membentuk bisflavon, dan mengalami polimerisasi lebih lanjut membentuk dimer (teaflavin, teaflavin galat, dan teaflavin digalat), dan jika polimerisasi terjadi lebih lanjut membentuk oligomer dengan struktur yang lebih kompleks, yaitu tearubigin.



Keterangan: S0 = teh hijau: stevia 100:0; S1=teh hijau: stevia 92:8; S2= teh hijau: stevia 84:16; S3=teh hijau: stevia 76:24; S4= teh hijau: stevia 68:32 P1= Penyimpanan suhu ruang selama 30 hari, P2= Penyimpanan suhu *refrigerator* selama 30 hari

Gambar 4.3. Hasil Pengujian Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH Awal dan Akhir Minuman Teh Hijau Stevia

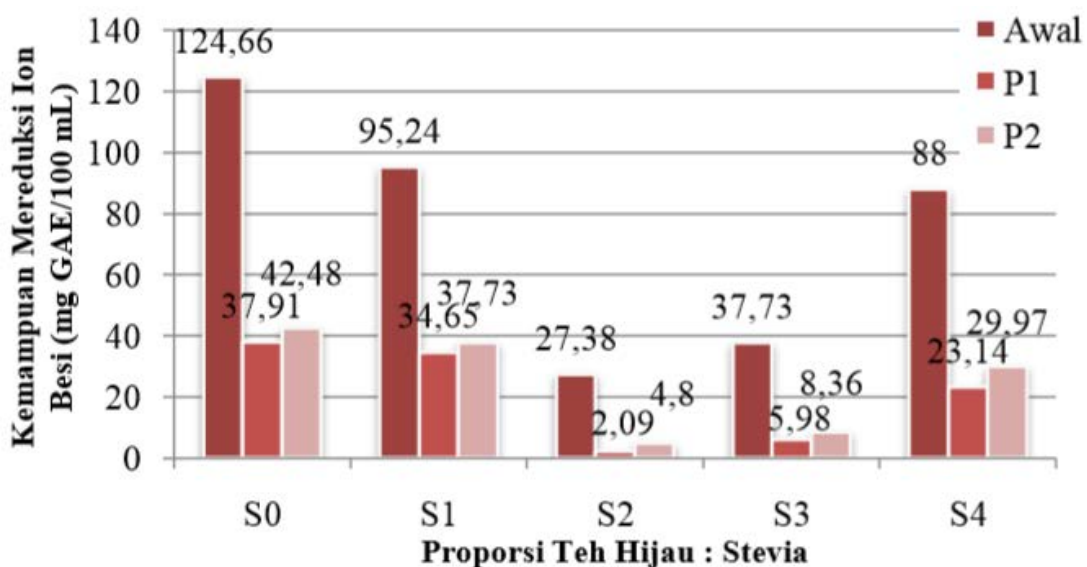
Salah satu pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur kemampuan menangkal radikal bebas DPPH. Pengujian ini didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga membentuk molekul diamagnetik yang lebih stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH akan menetralkan radikal bebas dan menyebabkan DPPH tereduksi yang ditunjukkan dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning. Hasil uji kemampuan menangkal radikal bebas DPPH awal dapat dilihat pada Gambar 4.3.

Pengkombinasian dari dua jenis ekstrak senyawa dapat memberikan efek yang saling meningkatkan pada konsentrasi tertentu, tetapi pada konsentrasi lain juga dapat saling menurunkan (Nedamani, 2014). Hasil uji kemampuan menangkal radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas pada perlakuan S1 (92:8) dan S2 (84:16) dibandingkan dengan perlakuan S0 yang hanya berisi teh hijau dan kemudian terjadi penurunan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH pada perlakuan S3(76:24) dan

S4(68:32). Hasil pengujian kemampuan menangkal radikal bebas DPPH memiliki hasil yang sejalan dengan pengujian total flavonoid.

Prinsip kerja antioksidan dalam mereduksi ion besi adalah dengan memutus rantai radikal bebas dengan mendonorkan elektron kepada Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi ion besi merupakan pengujian terhadap aktivitas senyawa sebagai antioksidan sekunder. Hasil pengujian aktivitas antioksidan minuman teh hijau stevia dalam mereduksi ion besi awal dan akhir dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Hasil pengujian yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat hubungan positif antara total fenol dan aktivitas antioksidan dalam mereduksi ion besi. Senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil sehingga mampu mendonorkan elektronnya dengan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Penurunan kemampuan mereduksi ion besi selama penyimpanan pada suhu ruang sebesar 63,61 - 92,31%, sedangkan penurunan kemampuan mereduksi ion besi selama penyimpanan pada suhu *refrigerator* sebesar 60,48-81,48%.



Keterangan: S0 = teh hijau: stevia 100:0; S1=teh hijau: stevia 92:8; S2= teh hijau: stevia 84:16; S3=teh hijau: stevia 76:24; S4= teh hijau: stevia 68:32 P1= Penyimpanan suhu ruang selama 30 hari, P2= Penyimpanan suhu *refrigerator* selama 30 hari

Gambar 4.4. Hasil Pengujian Kemampuan Mereduksi Ion Besi Awal dan Akhir Minuman Teh Hijau Stevia

Berdasarkan hasil pengujian dapat dilihat bahwa terjadi penurunan kemampuan mereduksi ion besi yang lebih tinggi pada suhu ruang dibandingkan dengan suhu *refrigerator*.

KESIMPULAN

Proporsi teh hijau: bubuk daun kering stevia dan suhu penyimpanan yang berbeda pada minuman teh hijau stevia berpengaruh pada kemampuan menangkal radikal bebas DPPH, kemampuan mereduksi ion besi, total fenol, dan total flavonoid. Kadar total fenol, total flavonoid, kemampuan mereduksi ion besi, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH awal pada minuman teh hijau stevia adalah 70,24-130,60 mg GAE/100 ml; 10,28-14,25 mg CE/100 ml; 27,38-95,24 mg GAE/100 ml; dan 77,73-91,99 %. Kadar total fenol, total flavonoid, kemampuan mereduksi ion besi, dan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH akhir pada penyimpanan suhu ruang dan suhu ruang adalah 6,97-59,71 mg GAE/100 ml; 2,71-10,44 mg CE/100 ml; 2,09-37,91 mg GAE/100 ml; 38-65,84 %; dan

28,13-104,13 mg GAE/100 ml; 4,95-42,56 mg CE/100 ml; 2,09-37,91 mg GAE/100 ml; dan 42,52-70,63 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui Riset Produk Terapan tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananda, A.D. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Organoleptik Minuman Fungsional Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Rempah Instan, Skripsi S-1, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gramza, A., J. Korczak, and R. Amarowicz. 2005. Tea Polyphenol-Their Antioxidant Properties and Biological Activity- A Review, Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 14(3):219-235.

- Karina, A. 2008. Pemanfaatan Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dan Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dalam Pembuatan Selai Rendah Kalori dan Sumber Antioksidan, Skripsi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Naczka, M., Ryszard A., Ryszard Z., Ronalds B.P., and S. Fereidoon. 2003. Antioxidant Activity of Crude Phenolic Extracts from Wild Blueberry Leaves. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 12(53): 166-169.
- Nedamani, E.R., A.S. Mahoonak, M. Ghorbani, M. Kashaninejad. 2014. Antioxidant Properties of Individual vs. Combined Extracts of Rosemary Leaves and Oak Fruit, *J. Agr.Sci. Tech*. 16: 1575-1586.
- Pourmorad, F., S.J. Hosseinimehr, and N. Shahabimajid. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants, *African Journal of Biotechnology*. 5 (11): 1142-1145.
- Siah, W.M., H. Faridah, M.Z. Rahimah, S.M. Tahir, and D.M. Zain. 2011. Effects of Packaging Materials and Storage on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Centella asiatica* Drinks, *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*. 39(1):1-7
- Xu, Z. and L.R Howard. 2012. *Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals*. UK: John Wiley and Sons, Ltd., p.72, 208.
- Yustika, E. 2015. Pemanfaatan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dan Daun Sirsak dalam Pembuatan Teh dengan Penambahan Pemanis Daun Stevia, Naskah Publikasi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.