

# TOKSISITAS AKUT (LD<sub>50</sub>) DAN UJI GELAGAT EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*CAMELLIA SINENSIS* (LINN.) KUNZE) PADA MENCIT

Dian Sundari<sup>\*</sup>, Budi Nuratmi<sup>\*\*</sup>, M. Wien Winarno<sup>\*\*</sup>

## Abstract

Among many kind of drinks, tea is the most preferable drink for Indonesian people. Compare to other drinks, tea has a lot of benefit to our healthy. Tea are able to prevent some diseases and help for recover process from simple diseases such as influenza, to chronic hard disease; that could cause death such as cancer. Variety of tea can be selected referring to the flavor. Acute toxicity test (Lethal Dose) has been conducted of the extract of green tea leave (*Camellia sinensis* (Linn.), Kunze.) to the safety and symptom test as well. The test used mice as an animal experiments. The acute toxicity test use Weil, C.S (1975) method for the acute toxicity test and Page, GE and Barnes, JM (1964) method for symptom test, high dosage under LD<sub>50</sub> value are given to the mice, while green tea leave extract is made by percolation according to the method in Indonesian Pharmacope III. One kilogram of green tea powder produced an extract of 375 g or 37.5% of rendemen (sample). The result showed, the LD<sub>50</sub> value of green tea leave extract was 3.303 (2.10 - 5.14) mg/10 g body weight i.p. By extrapolating the value as per oral in mice based on Gleason test (1969), the extract was classified as a Practically Non Toxic (PNT). The symptom test proved that green tea leave extract in a dosage of 2,7 mg/10 g body weight influenced the nerve system.

Key words : *Camelia Sibebisis* (Linn), Kunze, Green Tea, Safety, Toxicology

## Pendahuluan

Diantara sekian banyak jenis minuman, teh termasuk minuman paling banyak dikonsumsi masyarakat di Indonesia. Hampir semua orang pernah minum teh. Selain nikmat, minum teh dalam bentuk seduhan juga mempunyai banyak manfaat yang baik untuk kesehatan. Di Jepang dikenal adanya upacara minum teh. Selain nilai-nilai kultural dan ritual yang dimilikinya, minum teh ternyata memberi pula manfaat kesehatan. Secara empiris daun teh dipakai untuk obat sakit kepala, luka-luka, mencret. Penyakit seperti jantung, kanker dan anemia bisa dicegah dengan minum teh secara teratur<sup>1, 2, 3</sup>.

Dari hasil penelitian ilmiah, teh memiliki kemampuan menghambat pembentukan kanker.<sup>3</sup> Teh juga mampu mencegah penyakit jantung dan stroke<sup>4</sup>. Teh hijau dapat mencegah serangan influenza. Bahkan minuman dari pucuk daun *Camellia sinensis* ini dapat memperkuat gigi, melawan bakteri dalam mulut, mencegah terbentuknya plak gigi, serta mencegah osteoporosis.<sup>1,3</sup> Dalam saluran pencernaan, teh juga membantu melawan keracunan makanan dan penyakit seperti kolera, tipus dan desentri<sup>1</sup>. Beberapa penelitian pada hewan coba mencit

maupun tikus menyebutkan seduhan daun teh hijau dapat menurunkan kadar kolesterol, glukosa darah, mengurangi kerusakan hati dan mengurangi pertumbuhan jaringan kanker kelenjar mammae<sup>1, 5, 6, 7, 8, 9, 10</sup>.

Beragam manfaat teh tadi tidak lepas dari keberadaan senyawa-senyawa dan sifat-sifat yang ada pada daun teh. Komposisi kimia daun teh segar (dalam % berat kering) adalah : serat kasar, selulosa, lignin 22%; protein dan asam amino 23%; lemak 8%; polifenol 30%; kafein 4%; pektin 4%.<sup>3,4</sup> Daun teh mengandung tiga komponen penting yang mempengaruhi mutu minuman yaitu kafein, tanin dan polifenol. Kafein memberikan efek stimulan, tannin yang kandungannya sekitar 7-15% merupakan astringen kuat yang memberi rasa sepat atau khas (ketir) dan dapat mengendapkan protein pada permukaan sel; dan polifenol yang mempunyai banyak khasiat kesehatan.<sup>3,4</sup> Senyawa polifenol adalah antioksidan yang kekuatannya 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E.<sup>3,4</sup> Polifenol bermanfaat untuk mencegah radikal bebas yang merusak DNA dan menghentikan perkembangan sel-sel liar (kanker). Polifenol juga memberi efek positif berupa pencegahan penyakit jantung dan stroke. Senyawa antioksidan tersebut

\* Puslitbang Gizi dan Makanan

\*\* Puslitbang Biomedis dan Farmasi

dapat pula memperlancar system sirkulasi, menguatkan pembuluh darah dan menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Dengan polifenol teh membantu pula dalam penambahan jumlah sel darah putih yang bertanggung jawab melawan infeksi<sup>1, 2, 4, 6, 7, 8</sup>.

Menurut Tea Board India, dalam secangkir teh terkandung energi sekitar 4 kilo kalori, disamping flour, mangan, vitamin B kompleks, asam nikotinat dan asam pantotenat. Sejumlah Vitamin yaitu niacin atau vitamin B kompleks seperti vitamin B1 dan vitamin B2; serta vitamin C, E dan K dan mineral antara lain mangan, potasium dan flour.<sup>1</sup> Kandungan vitamin B2 teh kira-kira 10 kali lebih besar dibandingkan dengan yang terdapat pada sereal dan sayuran. Vitamin C nya pun lebih tinggi dari buah apel, tomat atau jeruk. Di dalam daun teh juga terkandung kafein dengan kadar 3-4%, kafein inilah yang memberikan rasa segar pada tubuh kita. Pada teh hijau juga ditemukan adanya katekin (catechin), r- amino butyric acid, flavonoid, polisakarida dan fluoride. Demikian pula minyak esensial yang memberi aroma khas dan harum. Secangkir teh hijau mengandung katekin 375 mg. Aktivitas polifenol dan katekin sebagai antioksidan mencegah radikal bebas yang dapat mengurangi kerusakan sel sehingga proses penuaan menjadi lebih lambat<sup>1, 4</sup>.

Ada 4 jenis teh, yakni teh putih, teh hijau, teh oolong dan teh hitam. Perbedaan keempatnya terletak pada pemrosesan daun teh setelah dipetik. Teh juga dibedakan berdasarkan proses fermentasinya. Semakin lama proses fermentasi, warna daun yang hijau akan berubah menjadi coklat dan akhirnya kehitaman. Proses pembakaran sangat menentukan citarasa teh dan aroma yang nikmat. Teh hijau adalah teh yang berasal dari pucuk daun teh yang sebelumnya mengalami pemanasan dengan uap air untuk menonaktifkan enzim-enzim yang terdapat dalam daun teh, kemudian digulung dan dikeringkan; mempunyai aroma alami dan bermanfaat bagi kesehatan<sup>1, 3, 4</sup>.

Minuman teh yang selama ini biasa dinikmati masyarakat adalah bentuk seduhan yaitu daun teh yang telah diolah di pabrik sesuai jenisnya, diberi air matang yang mendidih. Menikmati teh juga dapat divariasikan dengan menambahkan gula, susu, daun mint, air jeruk lemon, kapulaga atau batang serai<sup>3</sup>. Selain sebagai minuman dalam bentuk seduhan, daun teh hijau dapat dibuat dalam bentuk ekstrak etanol yang selanjutnya dapat diuji khasiatnya sebagai obat untuk beberapa penyakit degeneratif. Untuk

mengetahui keamanan penggunaan bentuk ekstrak etanol daun teh hijau tersebut, dilakukan uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) dengan cara Weil, CS. dan uji gelagat dengan cara Paget G.E. & Barnes, J.M.<sup>12, 16</sup>

## Bahan dan Cara Kerja

### Bahan dan Alat

1. Bahan percobaan adalah: daun teh hijau (*Camellia sinensis* Linn.) yang telah diidentifikasi, diperoleh dari Balai Penelitian Teh dan Kina di Perkebunan Gambung, Ciwidey, Bandung, Jawa Barat. Daun teh tersebut telah diproses sebagai teh hijau dan dikemas siap dipakai.
2. Hewan coba untuk uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>), adalah: mencit galur DDY (*Deutch Democratic Yokohama*), jantan, berat badan 25-30 gram, diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan (Badan POM) Jakarta. Jumlah mencit sekitar 150 ekor dengan umur sekitar 3 bulan.
3. Bahan kimia : Alkohol 70%, akuades, NaCl.
4. Alat-alat : mesin penggiling bahan coba, ayakan *Mesh* No. 48, timbangan hewan, seperangkat alat ekstraksi perkolasi, seperangkat alat rotavapor, piring pyrex, oven, spatel, botol-botol steril untuk menyimpan ekstrak dan eksikator, *disposable syringes* tuberkulin (5 cc; 2,5 cc; 1 cc), gelas ukur, erlen meyer, tabung reaksi, pengaduk kaca, pipet Pasteur, pipet ukur, mortar, pipet *ependorf*, *stop watch*.

## Cara Kerja

### 1. Pembuatan Ekstrak

Pada penelitian ini digunakan kemasan teh hijau dengan No. *Batch* yang sama bertujuan mengurangi variabel pengganggu yang menyebabkan perbedaan komposisi zat berkhasiat, misalnya perbedaan waktu panen dan lama penyimpanan. Teh hijau dari pabrik diekstraksi secara perkolasi sesuai dengan metoda yang tertera pada Farmakope Indonesia jilid III.<sup>14</sup> Teh hijau diserbuk halus dengan cara digiling, kemudian diayak dengan ayakan *Mesh* no. 48. Serbuk halus ditimbang secukupnya disesuaikan dengan tempat perendaman, kemudian direndam dalam etanol 70% selama satu malam dalam botol ekstraksi.

Dengan cara perkolasi larutan ekstraksi disaring dengan serat kaca (*glass wool*), kecepatan diatur 20 tetes permenit. Hasil tetesan ditampung dalam botol, dengan menambah larutan etanol

70% berulang-ulang, sampai tetesan ekstraksi berwarna bening. Dengan menggunakan alat rotavapor lengkap, larutan ekstrak ini dipekatkan menjadi larutan ekstrak kental, kemudian dituang dalam piring pyrex dipanaskan dalam oven dengan suhu 30<sup>0</sup> C sampai kering. Ekstrak kering dikumpulkan kemudian ditimbang dan dimasukkan dalam botol dan disimpan didalam eksikator.

## 2. Percobaan Toksisitas Akut (LD<sub>50</sub>) :

Uji toksisitas (LD<sub>50</sub>) ekstrak teh hijau dilakukan dengan metoda Weil, C.S.<sup>12</sup>. Ada 2 tahap dalam metoda ini yaitu ; Tahap I dan II.

### Tahap I (tahap penjajakan)

Sediakan 6 kelompok mencit yang masing-masing terdiri dari 3 ekor, jenis kelamin sama, setiap kelompok diberi bahan percobaan secara intra peritoneal (i.p) dengan dosis berbeda antara 10 - 100 mg/10 gr bb. dengan menggunakan satu faktor kelipatan tertentu. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan melihat adanya kematian 0% dan 100% dalam kelompok. Apabila tidak ada mencit yang mati, maka dosis diperbesar sampai diperoleh kematian 100% dalam satu kelompok.

### Tahap II

Percobaan dilanjutkan dengan menyediakan 6 kelompok mencit yang terdiri dari 5 ekor. Bahan diberikan pada masing-masing kelompok dengan dosis meningkat menurut faktor tertentu. Dosis terkecil yaitu dosis yang dalam kelompok penjajakan terdapat kematian 0%, sedangkan dosis terbesar dimana dalam kelompok penjajakan terdapat kematian 100%. Setelah 24 jam, hitung jumlah kematian mencit tiap-tiap kelompok. Percobaan diulang beberapa kali sampai hasil kematian sesuai dengan daftar atau tabel yang dibuat oleh C. Weil, dengan menggunakan rumus tertentu yang sudah disediakan, harga LD<sub>50</sub> bahan yang diteliti dapat dihitung<sup>12</sup>. Rumus Perhitungan LD<sub>50</sub> menurut Weil C.S.

$$\text{Log } m = \text{log } D + d (f + 1)$$

dimana :

m = LD<sub>50</sub>,

D = dosis terkecil

= 2,21 mg / 10 g bb. pada mencit

d = log R

= log dari kelipatan dosis = 1,4

d = log 1,4

= 0,146 (membulatkan d = 0,15)

f = sesuatu faktor dari tabel = 0,16667

## 3. Uji Gelagat

Uji gelagat dilakukan pada mencit jantan dan betina @ 3 ekor dengan dosis yang dicoba adalah : 0,9 mg/10 g bb.; 1,8 mg/10 g bb dan 2,7 mg/10 g bb. ip. Dosis terkecil yang dicoba untuk uji gelagat ini (0,9 mg/10 g bb.), kurang lebih sepertiga dari nilai LD<sub>50</sub> nya, sedangkan dosis kedua (1,8 mg/10 g bb.) dan ketiga (2,7 mg/10 g bb.) adalah dua kali dan tiga kali dosis terkecil. Pengamatan yang dilakukan adalah terhadap 3 kelompok gejala, yaitu :

- Gejala kelompok gelagat (*Behavioral Profile*)
- Gejala kelompok syaraf (*Neurological Profile*)
- Gejala kelompok syaraf otonom (*Autonomic Profile*)

## Hasil

### 1. Pembuatan Ekstrak

Dari hasil ekstraksi 1 kg serbuk kering teh hijau diperoleh ekstrak etanol kering sebanyak 375 gr, maka besarnya rendemen dari serbuk ke ekstrak adalah : 37,5%.

### 2. Uji Toksisitas Akut (LD<sub>50</sub>)

Hasil percobaan toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) tahap II (tahap penentuan) tersusun pada table 1. Terlihat bahwa LD<sub>50</sub> bahan uji (ekstrak etanol 70% daun teh hijau (*Camellia sinensis* Linn.)) didapat nilai 3,303 mg/10 g bb. (2,120 - 5,140 mg/10 g bb.). Setelah diekstrapolasi nilai pada tikus per oral menurut Gleason dkk.<sup>15</sup> menunjukkan bahwa bahan uji termasuk golongan *practically non toxic* (PNT). Untuk (LD<sub>50</sub>) oral didapatkan harga 23.121 mg/kg bb. yang ternyata lebih besar dari 15.000 mg/kg bb.

### 3. Uji gelagat

Pada uji gelagat, dosis coba 2,7 mg/100 g bb. ekstrak teh hijau memperlihatkan sifat merangsang susunan syaraf pusat (SSP). Indikasi adanya sifat merangsang susunan syaraf pusat ini, terlihat dari hasil pengamatan, yaitu :

- Naiknya reaktifitas atau gerakan spontan
- Adanya reaksi rasa sakit atau *pain response* terlihat pada respon nyeri
- Adanya *straub* dimana ekor terlihat tegang dan kaku.
- Terjadinya tremor atau tubuh terlihat gemetar dan konvulsi (*convulsions*) atau kejang-
- Kejang spastik.
- Terlihat cara berjalan terhuyung-huyung atau sempoyongan dan menunjukkan
- Adanya inkoordinasi dari otot daging skelet.
- Terjadinya midriasis atau pupil melebar

**Tabel 1.**  
**Hubungan kelompok dosis dan kematian mencit setelah pemberian ekstrak etanolik teh hijau selama 24 jam**

No. Kelompok	Dosis (mg/10 g bb. i.p)	Jumlah Mencit Tiap kelompok (ekor)	Jumlah Mencit yang Matian setelah 24 jam
1	2,21	5	1
2	3,10	5	3
3	4,34	5	3
4	6,07	5	4
5	8,5	5	2
6	11,9	5	5
7	16,7	5	5

Keterangan :

Penentuan LD<sub>50</sub> menggunakan tabel yang disusun oleh Weil, C.S.

1,3,3,4. adalah kematian mencit sesuai pada tabel . = r

2,21 mg/10 g bb. adalah dosis terkecil yang digunakan

1,4 adalah kelipatan antara kelompok dosis

n = 5 , k = 3 maka  $f = 0,6667$   $\delta f = 0,64310$

volume pemberian 0,125 ml / 10 g bb. i.p.

**Tabel 2. Hasil Pengamatan Uji Gelagat terhadap Mencit yang diberi Ekstrak Teh Hijau**

Kelompok Gejala	Dosis yang dicoba					
	0,9 mg/10 g bb.		1,8 mg/10 g bb.		2,7 mg/10 g bb.	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina
Kelompok gelagat (Behavioral Profile)	-	-	-	-	+	+
Kelompok syaraf (Neurological Profile)	-	-	-	-	+	+
Kelompok syaraf otonom (Autonomic Profile)	-	-	-	-	+	+

Hasil dari uji gelagat tidak dapat dihitung secara persentase karena hanya menggunakan 3 pasang mencit (6 ekor) untuk ketiga dosis coba juga hanya mengamati gerakan dan perubahan yang terjadi secara morfologis (tabel 2), untuk melengkapi data dari nilai LD<sub>50</sub>.

## Pembahasan

Ada dua macam teh hijau menurut asalnya, yakni teh hijau Cina dan Jepang. Hampir semua teh yang diminum di Cina adalah teh hijau. Begitu pula dengan di Jepang. Di Amerika Serikat popularitas teh jenis ini meningkat setelah dilakukan penelitian yang hasilnya menyatakan bahwa penggunaan teh hijau dapat menurunkan risiko terhadap timbulnya kanker. Untuk memproduksi teh hijau yang bermutu, harus dilakukan budidaya yang tepat agar manfaat terhadap kesehatan, kemurnian senyawa aktif dalam teh segar dapat dipertahankan, sehingga nikmat teh masih dapat dirasakan saat disajikan sebagai minuman<sup>1</sup>.

Setelah dipetik, daun-daun yang masih hijau dilayukan di udara panas. Kemudian secara tradisional disangrai dengan menggunakan kuali logam, tujuannya untuk mencegah oksidasi pada daun. Proses berikutnya menambah keawetan dengan memberi bentuk pada daun tersebut, yakni dapat dipilin, keriting atau bundar. Proses ini juga membantu pengaturan pengeluaran senyawa alami dan aroma selama penyeduhan. Tahap terakhir, daun dikeringkan dengan pengapian sehingga keharuman dan aroma alaminya tetap terjaga, begitu pula dengan warna hijau. Pada penelitian ini digunakan jenis daun teh hijau karena diketahui mempunyai kandungan polifenol yang lebih besar daripada teh hitam dan teh Oolong<sup>4,11</sup>. Pada proses pengolahan teh, polifenol yang teroksidasi akan memberikan ketajaman, kekuatan rasa dan warna pada seduhan. Pengolahan daun teh hijau dilakukan tanpa melalui proses oksidasi atau fermentasi sehingga kandungan polifenol daun teh hijau relatif tetap. Komponen spesifik pada daun teh adalah polifenol, katekin dan metilxantin yang diduga berperan sebagai antioksidan<sup>1, 4, 5, 6, 7</sup>.

Uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) dilakukan pada penelitian ini untuk melihat derajat keamanan. Walaupun teh dalam bentuk seduhan aman dikonsumsi, namun masih dilakukan uji toksisitas akut. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% daun teh hijau, mencapai nilai 3,303 (2,120-5,140) mg/10 g berat badan, pada mencit secara intra peritoneal. Ekstrapolasi hasil pada tikus per oral menurut Gleason, c.s. menunjukkan bahwa

bahan uji tersebut dapat dikategorikan dalam golongan *Practically Non Toxic* (PNT). Untuk (LD<sub>50</sub>) oral didapatkan harga 23.1210 mg/kg berat badan. yang ternyata lebih besar dari 15.000 mg/kg berat badan. Dengan demikian ekstrak teh hijau aman digunakan. Disamping untuk melihat derajat keamanan suatu bahan, uji LD<sub>50</sub> juga bertujuan untuk menentukan dosis yang relatif aman dipakai dan untuk mengetahui adanya toksisitas kumulatif dari suatu bahan yang diberikan secara berulang-ulang selama 8 hari. Efek toksik kumulatif dapat terjadi karena suatu zat terfiksasi secara kuat pada jaringan atau bila proses metabolisme dan ekskresi tidak menghilangkan zat dari tubuh dalam waktu yang memadai<sup>15,16</sup>.

Uji gelagat merupakan pra penapisan khasiat yang bertujuan untuk menemukan khasiat suatu bahan yang mungkin ada dan memberi informasi atau arahan untuk percobaan berikut yang lebih khusus. Dengan mengamati gelagat yang ditimbulkan seperti yang disebutkan di atas, maka perlu keberhati-hatian dalam pemberian dosis karena bahan tersebut kemungkinan dapat merangsang susunan saraf pusat. Hasil dari uji gelagat tidak dapat dihitung secara persentase karena uji ini hanya mengamati gerakan dan perubahan yang terjadi secara morfologis untuk melengkapi data dari nilai LD<sub>50</sub>. Naiknya gerakan spontan atau reaktivitas merupakan tanda adanya stimulasi susunan syaraf pusat atau ganglia (*neuromuscular junction*), sedangkan timbulnya reaksi rasa sakit (*pain response*) merupakan tanda adanya analgesia, sedasi atau depresan sentral. Kedua gejala ini termasuk gejala kelompok gelagat (*Behavioral Profile*). Timbulnya gejala *straub*, tremor dan *convulsions* menandakan adanya rangsangan atau stimulasi pada susunan syaraf pusat khususnya syaraf sumsum tulang belakang; adapun cara berjalan yang terhuyung-huyung (sempoyongan) menandakan inkoordinasi motor dari otot daging skelet. Kempat gejala ini merupakan gejala kelompok syaraf (*Neurological Profile*). Sedangkan terjadinya midriasis merupakan tanda adanya efek adrenergik atau simpatomimetik atau parasimpatolitik. Gejala ini merupakan gejala kelompok syaraf otonom (*Autonomic Profile*). Dalam hal ini kemungkinan senyawa yang terkandung dalam teh hijau bersifat serupa dengan adrenalin atau menghasilkan efek seperti pada perangsangan saraf simpatik.

Efek perangsangan susunan syaraf pusat ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan zat kimia kofein, polifenol atau zat katekin yang terdapat dalam daun teh hijau. Berdasarkan nilai

LD<sub>50</sub> yang didapat dan dibuktikan dengan uji gelagat pada dosis 0,9; 1,8 dan 2,7 mg/10 g bb. ip mencit belum menunjukkan gelagat merangsang susunan syaraf pusat yang besar serta tidak menimbulkan kematian pada hewan, sebaliknya hewan tetap tampak segar dan bertambah aktif.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) dengan nilai LD<sub>50</sub> 3,303 mg/10 g bb. (2,120 - 5,140 mg/10 gr bb.), dan hasil ekstrapolasi menurut Gleason, bahan uji ekstrak etanol daun teh hijau termasuk golongan *practically non toxic* (PNT) sehingga bahan uji relatif aman digunakan. Bahan uji ekstrak etanol daun teh hijau kemungkinan mempunyai sifat merangsang susunan syaraf pusat.

### Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada semua pihak atas bantuan dan kerjasama yang telah diberikan sehingga penelitian "Toksitas akut (LD<sub>50</sub>) dan uji gelagat ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (Linn.) Kunze) pada mencit" ini dapat terlaksana dengan baik.

### Daftar Pustaka

1. Yudana, I.G.A; Luize, A. *Mengenal ragam & manfaat teh*, *Majalah Intisari*, Mei 1998; [www.indonesia.com/intisari/1998/mei/teh.htm-16k](http://www.indonesia.com/intisari/1998/mei/teh.htm-16k), diakses 23 Juli 2008.
2. Mardiswojo, S 1987 : *Rajakmangunsudarso, H: Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*, jilid I dan II; Balai Pustaka Jakarta.
3. Sutomo, B.2006 : *Antioksidan teh, cegah kanker dan penuaan dini*. [budiboga.blogspot.com/2006](http://budiboga.blogspot.com/2006), diakses 14 November 2008.
4. Khomsan, A. *Antioksidan pada teh sup kimiawi*, [http : // www.trangpunyaweb.com/2007/01/antioksidan-pada-teh-sup-kimiawi.html](http://www.trangpunyaweb.com/2007/01/antioksidan-pada-teh-sup-kimiawi.html) . , diakses 08 September 2008.
5. Marlissa, Linda Amelia. 1997. *Uji daya proteksi seduhan teh hijau (Camellia sinensis L.) terhadap hati mencit putih yang diberi karbon tetraklorida*. Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA ISTN.
6. Kusumo, Pratiwi Dyah. 1994. *Daya hambat ekstrak air teh hijau ekstrak air teh hijau (Camellia sinensis L., Kunze) terhadap proliferasi sel tumor kelenjar susu mencit (Mus musculus L.) galur C3H*. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA UI.
7. Mulyaharti, T. 1989. *Pengaruh ekstrak teh hijau terhadap fungsi hati pada tikus putih*, Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA UI.
8. Edwin D. 1994. *Efek sari seduhan teh hijau (Camellia sinensis L.) terhadap kadar kolesterol dan trigliserida tikus putih yang diberi diet kuning telur dan sukrosa*. Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA UI.
9. Sutarmaji, Aji. 1994. *Pengaruh sari seduhan teh hijau terhadap kadar glukosa darah tikus normal yang diberi diet glukosa*. Skripsi Jurusan Farmasi FMIPA UI.
10. SUR. 1993. *Dibalik sehatnya teh*. Buletin IDI. hal. 2-9.
11. Sion, J.T. 1995. *Analisa kandungan anti oksidan dalam teh dengan spektrometri*. Jurusan Farmasi FMIPA UI.
12. Weil; C, S, 1975. *Tables for convenient calculation of median effective dose ld<sub>50</sub> or ed<sub>50</sub> end intruction in their use biometrie*; p. 249-263.
13. Domer, F.R., 1971. *Animal experiments pharmacological analysis.*, Charle C. Thomas Springfield USA.
14. Departemen Kesehatan RI, 1970 : *Farmakope Indonesia*, Edisi III.
15. Gleason, MN, 1969. *Clinical toxicology of commercial product.*, The William & Wilkin s.,Co, Baltimore; p.3-4.
16. Paget & Barnes, 1964. *Dalam: Laurence, DR & Bacharach, AL. Evaluating of drug activities, pharmacometric.* Academic Press. London, New York.