

Pengaruh Penambahan Nitrogen pada Pupuk Cair dan Musim Terhadap Kandungan Bahan Aktif Epigallocatekin Galat (EGCG) Pucuk Teh (*Camellia sinensis* L.)

Zakarias Frans Mores Hukum

Program Studi Agroteknologi, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Pattimura
Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233
Email: zakariahukom@gmail.com

ABSTRAK

Epigallocatekin Galat (EGCG) adalah senyawa bioaktif turunan catekin pucuk teh yang memiliki sifat antioksidan sangat tinggi. EGCG banyak digunakan sebagai bahan baku terapi penyembuhan berbagai penyakit degenerative. Kandungan EGCG pada pucuk teh sangat ditentukan oleh faktor iklim dan manajemen teknik budidaya terutama pasokan hara nitrogen sebagai elemen kunci pada tahap awal biosintesis prekursor catekin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh penambahan tingkat N pada pupuk cair terhadap kandungan bahan aktif EGCG pucuk teh pada musim hujan dan kemarau. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu acak kelompok lengkap yang terdiri dari 5 tingkat pemupukan di musim hujan dan kemarau. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi pupuk cair tanpa penambahan N di musim kemarau memberikan pengaruh signifikan terhadap kandungan EGCG pucuk dan lebih tinggi 12,53 %. Kandungan EGCG lebih tinggi 97,45 % sampai 98,16 % dari kandungan EGCG pada musim hujan dan 63,73 % lebih tinggi dari tanaman kontrol pada musim kemarau.

Kata Kunci: EGCG, Musim, Penambahan N, Pucuk Teh, Pupuk cair.

The Effect of Nitrogen Addition in Liquid Fertilizers and Seasons on the Active Content of Epigallocatechin Gallate (EGCG) Tea Shoots (*Camellia sinensis* L.)

ABSTRACT

Epigallocatechin Gallate (EGCG) is a bioactive compound derived from tea shoot catechin that posing very high antioxidant. EGCG is widely used as raw materials in therapeutic healing of various degenerative diseases. EGCG content in tea shoots is largely determined by climatic factors and cultivation technique management, especially nitrogen nutrient supply as a key element in the early stages of catechin precursor biosynthesis. This study aims to determine the effect of adding N levels in liquid and seasonal fertilizers on the active content of EGCG tea shoots. The experimental design used was a complete randomized consisting of 5 levels of fertilization in rainy and dry seasons. The results showed that the application of liquid fertilizer without the addition of N in the dry season has a significant effect on the EGCG content of tea shoots and 12,35% higher than the rainy season. The EGCG content in the dry season is 97.45% to 98.16% higher than the rainy season, and 63.73% is higher than the control plants in the dry season.

Keywords: EGCG, Season, N addition, Tea shoot, Liquid fertilizer.

PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze) adalah tanaman terpopuler di dunia sebagai penghasil bahan baku pembuat minuman, industri pengolahan pangan fungsional dan

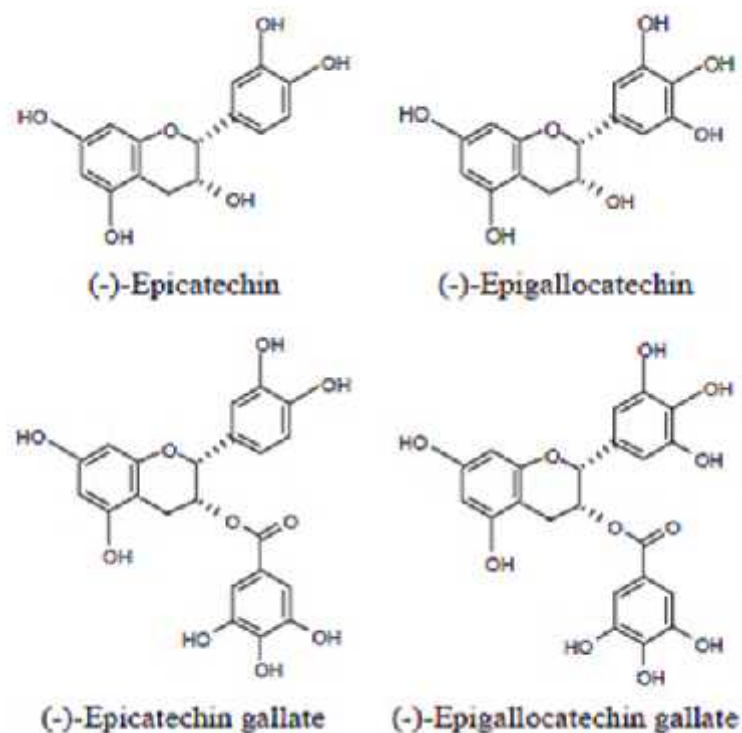
industri farmasi. Kandungan bahan aktif pucuk teh sangat bermanfaat untuk pemulihan kesehatan badan dan tidak memberikan dampak negatif^[1].

Pucuk Teh Indonesia dikenal karena memiliki kandungan catekin (antioksidan

alami) tertinggi di dunia [2]. Katekin adalah salah satu jenis senyawa fitokimia turunan dari poliphenol yang memiliki khasiat antioksidan yang tinggi. Faktor yang mempengaruhi kadar katekin adalah jenis kultivar, ketinggian tempat, iklim, tingkat kesuburan tanah, umur daun dan jenis pucuk. Dipandang dari sisi kesehatan, makin tinggi kandungan katekin dalam bahan baku pucuk teh berarti makin bermanfaat bagi kesehatan. Kandungan katekin pucuk teh berkisar antara 10-30% dari seluruh berat kering daun [3,4].

Senyawa turunan katekin yang ditemukan dalam pucuk teh merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), epigalokatekin (EGC), epigalokatekin galat (EGCG) dan galokatekin (GC) (Gambar 1). Komponen

yang mendominasi dan mempunyai sifat aktivitas biologis sebagai antioksidan yang paling tinggi adalah ECGC [2]. Kandungan ECGC dan ECG yang tinggi dalam pucuk teh menyebabkan pucuk teh dijadikan komoditi pertanian komersial penting [5]. Beberapa hasil penelitian terdahulu telah melaporkan bahwa EGCG sebagai indikator utama yang menentukan kualitas pucuk teh. Produksi dan akumulasi metabolit tersebut dalam pucuk tanaman teh merupakan komponen kualitas teh yang paling penting manfaatnya [3]. Hasil penelitian di perkebunan teh plasma menunjukkan bahwa klon TRI 2025 memiliki kandungan EGCG yang lebih tinggi dari enam klon unggul yang diuji pada ketinggian 889 - 1346 meter dari permukaan laut pada musim hujan dan kemarau [6,7].



Gambar 1. Struktur Derivat Senyawa Katekin dalam pucuk teh [3].

Untuk mendapatkan pucuk teh dengan kandungan EGCG yang maksimal diperlukan teknik pemupukan seimbang pada tingkat inisiasi dan regenerasi mata tunas setelah

pemetikan pucuk [8]. Nitrogen adalah salah satu hara makro primer yang berpengaruh terhadap peningkatan hasil dan kualitas pucuk. Hal ini karena nitrogen merupakan bahan

dasar pembentuk senyawa asam amino yang berfungsi sebagai prekursor utama pada tahap awal biosintesis katekin [3,9,10,11,12]. Aplikasi konsentrasi pupuk nitrogen cair sebesar 3.000 ppm per m⁻² melalui metode irigasi *automatic drip vertigation system* di bawah perdu teh di perkebunan teh Tencha Jepang meningkatkan hasil dan kandungan asam amino jaringan daun masing-masing sebesar 160,00% dan 17,33% terhadap pemupukan N konvensional [10]. Aplikasi konsentrasi nitrogen 1,50 mmol L⁻¹ dalam nutrisi lengkap hidroponik menghasilkan kandungan EGCG pucuk teh yang tertinggi (83,54 mg g⁻¹ berat kering) [3].

Dampak pergeseran iklim saat ini telah berpengaruh terhadap penurunan produksi dan kualitas pucuk teh sebesar 20-30 % dari kondisi normal [13]. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa akumulasi kadar metabolit sekunder pucuk teh sangat dipengaruhi oleh faktor iklim [14,15]. Musim hujan dengan intensitas curah hujan yang tinggi berpengaruh terhadap penurunan kandungan senyawa metabolit sekunder katekin dan metylxantin pucuk teh mencapai 50 % dibandingkan dengan musim kemarau [16].

Proporsi akumulasi senyawa katekin terutama EGCG dalam pucuk teh merupakan salah satu indikator penentu kualitas pucuk teh premium. Penerapan teknik budidaya teh terutama aplikasi pupuk dan pemberian air irigasi dengan metode yang tepat dan berkelanjutan merupakan kunci pengelolaan teh dalam upaya penyediaan bahan baku industri dengan kandungan senyawa bahan aktif EGCG yang tinggi. Hipotesis yang dikemukakan pada penelitian ini adalah aplikasi pupuk cair tanpa penambahan N di musim kemarau berpengaruh signifikan dan lebih tinggi terhadap kandungan EGCG pucuk teh.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah pucuk teh segar klon TRI 2025 sesuai perlakuan di perkebunan teh rakyat Samigaluh, Kulon

Progo, DIY dari bulan Januari 2017 samapi Januari 2018. Penelitian menggunakan rancangan percobaan antar musim 5 x 2 x 3 acak kelompok lengkap yang terdiri dari faktor penambahan Nitrogen pada pupuk cair dan musim. Perlakuan pemupukan terdiri dari 5 tingkat yaitu kontrol atau tanpa pemberian pupuk cair dan tanpa penambahan konsentrasi N dalam pupuk cair tetapi menggunakan rekomendasi pemupukan konvensional sebanyak 60 g urea, 10 g SP-36, dan 20 g KCl perdu⁻¹ tahun⁻¹, pemberian pupuk cair tanpa penambahan N (0 g N dalam pupuk cair); penambahan 2,33 g N; 7,00 g N dan 11,67 g N masing-masing pada pupuk cair. Formula pupuk cair terdiri dari campuran pupuk organik cair dan larutan mineral hidroponik berkadar hara rendah yang dibuat berdasarkan perhitungan formula Resh [17]. Komposisi hara pupuk organik cair terdiri dari : 21,6 ppm N; 1,31 ppm P; 7,47 ppm K; 0,12 ppm Ca; 0,3 ppm Mg; 0,3 ppm Fe; 0,3 ppm Cu; 0,3 ppm Mn; 0,3 ppm Zn dan 1,6 % asam amino. Komposisi larutan mineral hidroponik terdiri dari : 27 ppm KH₂PO₄; 38,81 ppm KNO₃; 100 ppm Ca(NO₃)₂; 49,97 ppm MgSO₄.7H₂O; 66,66 ppm S; 2 ppm Fe EDTA; 0,5 ppm MnSO₄.H₂O; 0,05 ppm CuSO₄; 0,1 ppm ZnSO₄; 0,5 ppm H₃BO₃ dan 0,02 ppm NaMoO. Aplikasi penambahan N dalam pupuk cair dilakukan dengan interval 10 hari sekali setelah pemetikan pucuk secara kontinu selama satu tahun.

Untuk keperluan analisis kandungan EGCG, pucuk dari setiap perlakuan dipetik pada bulan Maret dasarian kedua untuk mewakili musim hujan dengan jumlah curah hujan dasarian sebesar 125 mm dan curah hujan bulanan sebesar 647 mm sedangkan untuk musim kemarau pucuk dipetik pada bulan Oktober dasarian pertama dengan jumlah curah hujan dasarian sebesar 46 mm dan jumlah curah hujan bulanan sebesar 90 mm. Total konsentrasi N dan volume aplikasi dari setiap perlakuan penambahan N pada pupuk cair tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Dosis Pupuk N-Urea dalam Pupuk Cair dan Volume Larutan Aplikasi dari Setiap Perlakuan.

Penambahan N pada 15 L pupuk cair 3000 ppm	Total [N] dalam pupuk cair (ppm)*	Dosis N-urea dalam 3000 ppm LS	Jumlah urea dan volume LA tanaman ⁻¹	Total urea dan volume LS tahun ⁻¹	Dosis N-urea pada tanaman sampel tahun ⁻¹	Dosis N-urea ha ⁻¹ tahun ⁻¹
Kontrol	-	-	60 g	2,88 kg	1.325 g	383,3 kg
0 g N	105,00 ⁺	1,24 g	0,35 L	1,8 Liter	61,60 g	17,8 kg
2,33 g N	260,00 ⁺	3,57 g	0,35 L	1,8 Liter	177,36 g	51,32 kg
7,00 g N	571,33 ⁺⁺	8,24 g	0,35 L	1,8 Liter	409,36 g	118,44 kg
11,67 g N	882,67 ⁺⁺	12,91 g	0,35 L	1,8 Liter	641,37 g	185,57 kg

Keterangan : LA = larutan aplikasi dalam 15 liter air, LS = larutan stok pupuk cair, luas area sampel = 7,5 m², jarak tanam 0,6 x 1,2 m dan diulang 3 kali, * = kriteria kisaran konsentrasi nutrisi untuk tanaman hidroponik [18,19, 20], + = cukup, ++ = di atas rata-rata.

Penetapan Kadar EGCG

Analisis EGCG dilakukan menggunakan metode kromatografi Lapis tipis (KLT). Pengukuran dilakukan pada daun pucuk teh premium (p+1, p+2, p+3, b+1, b+2, b+3) dari setiap perlakuan dan diambil secara acak pada bidang petik. Tahapan penetapan kadar EGCG sebagai berikut : 50 mg sampel dari setiap perlakuan dilarutkan dengan 5 ml etanol dan divortex selama 2 menit, sonifikasi selama 30 menit dan maserasi selama 24 jam. Filtrat dievaporasikan kemudian diencerkan dengan 1 ml etanol, spotting sampel pada plate silikagel F₂₅₄ sebanyak 10 µl, persiapan pembanding menggunakan standar epigallocatechine gallate (E. Mrk), bahan uji dimasukkan ke dalam chamber jenuh fase gerak dengan rasio Chloroform-Asam Asetat-Asam Formiat-Iso Propanol (16-2-2-8), eluasi dan densito spot EGCG pada panjang gelombang 280 nm dengan winCATS Chromatography manager CAMAG. Kadar EGCG dihitung berdasarkan kurva regresi standar dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar EGCG (\%)} = \frac{(R \cdot E \cdot d_i \cdot s_i)}{f_i \cdot h \cdot s_i \cdot s_i} \times 100$$

Data hasil analisis kadar bahan aktif EGCG dari setiap perlakuan konsentrasi N

dalam pupuk cair pada musim hujan dan musim kemarau diuji dengan analisis varians (ANOVA) dengan program analisis statistik SAS University. Apabila pada sidik ragam menunjukkan pengaruh nyata dari perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Tukey (BNT) pada taraf 5 %. Pola respon variabel pengamatan kandungan bahan aktif EGCG pucuk teh dari setiap perlakuan ditentukan dengan analisis regresi pada tingkat 5 % dengan menggunakan program excel for Windows 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan aktif adalah senyawa bioaktif alamiah turunan polyphenol yang dihasilkan tanaman teh untuk melindungi dan mempertahankan kehidupannya terhadap berbagai faktor eksternal yang merugikan. Oleh karena itu kandungan EGCG dalam pucuk teh merupakan komponen penentu kualitas pucuk teh sebagai bahan baku industri minuman, pangan fungsional, farmasi, pupuk organik, pestisida dan herbisida nabati [21]. Data kadar EGCG pada pucuk teh setelah penambahan berbagai tingkat N dalam pupuk cair pada musim hujan dan kemarau disajikan pada Tabael 2.

Tabel 2. Kadar EGCG Pucuk Teh pada Penambahan Berbagai Tingkat N dalam Pupuk Cair pada Musim Hujan dan Kemarau (% mg/g Berat kering).

Penambahan N dalam 3000 ppm pupuk cair (g)	Musim Hujan		Musim Kemarau	
	Kandungan EGCG (% b/b)	Perbedaan terhadap penambahan pupuk cair di musim kemarau (%)	Kandungan EGCG (% b/b)	Perbedaan terhadap penambahan pupuk cair (%)
Kontrol	0,23 d	98,16	1,06 d	91,54
0 (hanya pupuk cair)	0,32 d	97,45	12,53 a	-
2,33	0,29 d	97,69	11,87 ab	51,35
7,00	0,27 d	97,85	11,06 ab	53,12
11,67	0,25 d	98,00	9,70 c	55,15
Rerata	0,27		9,24	+

Keterangan : BNT_{interaksi (0,05)} = 1,09.

+ = interaksi. Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan sedangkan angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan [22].

Pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa Kadar EGCG pucuk teh musim hujan tidak dipengaruhi oleh pemberian pupuk cair dan atau tanpa penambahan N tetapi terpengaruh pada musim kemarau. Pemberian pupuk cair tanpa penambahan N memberikan pengaruh tertinggi terhadap peningkatan kadar EGCG pucuk teh. Kadar EGCG pucuk teh akibat pemberian pupuk cair tanpa penambahan N tersebut memberikan pengaruh lebih tinggi secara berturut-turut 91,54 % dan 98,16 % dari tanaman kontrol pada musim kemarau dan musim hujan atau 97,45 % lebih tinggi dari kadar EGCG tanaman yang diberi pupuk cair tanpa penambahan N di musim hujan. Hal ini disebabkan karena kandungan hara N dalam pupuk cair berada pada konsentrasi cukup dan seimbang untuk kebutuhan tanaman (105,00 ppm) (Tabel 1). Apabila pada pupuk cair ditambahkan 2,33 g N maka total konsentrasi N pada larutan aplikasi meningkat menjadi 260,00 ppm (Tabel 1) sehingga konsentrasi N berada pada kisaran konsentrasi rata-rata kebutuhan tanaman [18,19,20]. Besarnya total konsentrasi N pada pupuk cair tanpa penambahan N atau penambahan 2,33 g N tersebut sangat penting untuk sintesis asam

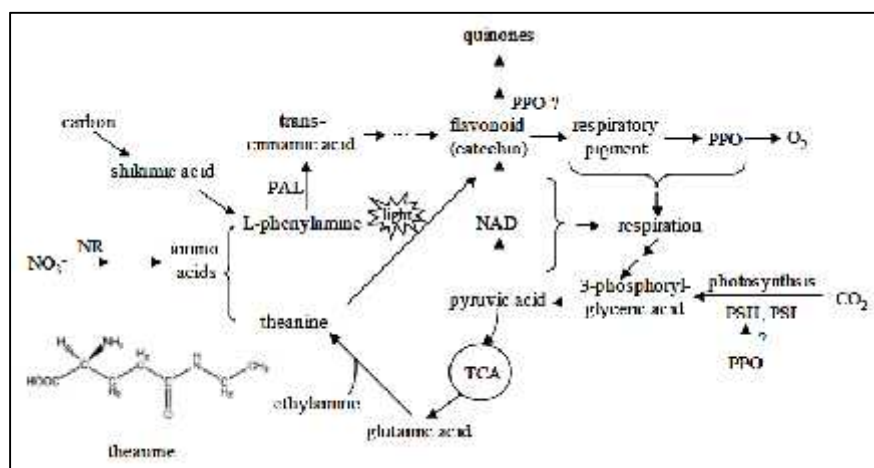
amino dan enzim PAL sebagai prekursor utama dalam jalur biosintesis metabolit sekunder EGCG [3,11] (Gambar 2). Tingginya kadar EGCG di musim kemarau disebabkan karena lebih banyak cahaya matahari yang diserap oleh *phytochrom* daun untuk mensintesis kadar klorofil b [22]. *Phytochrom* dapat mengontrol perubahan struktur protein klorofil pada cahaya merah dengan panjang gelombang 730 nm untuk menghasilkan isomerisasi ikatan rangkap yang dapat diperluas sampai batas tertentu pada panjang gelombang 660-700 nm [23]. Faktor suhu dan intensitas cahaya matahari tidak berpengaruh langsung terhadap kapasitas biosintesis katekin, tetapi dikendalikan oleh kandungan klorofil daun [24]. Hal ini didukung dengan hasil analisis korelasi yang menunjukkan bahwa terdapatnya hubungan yang kuat antara kadar EGCG pucuk teh dengan sekapan cahaya ($r = 0,69^*$), kadar klorofil-b ($r = 0,85^{**}$), kandungan N total tanah ($r = -0,70^*$), dan kandungan N daun ($0,63^*$) [22].

Penambahan N yang tinggi (11,67 g N) pada pupuk cair di musim kemarau berpengaruh terhadap penurunan kadar EGCG pucuk teh (Tabel 2 dan Gambar 3). Kondisi ini

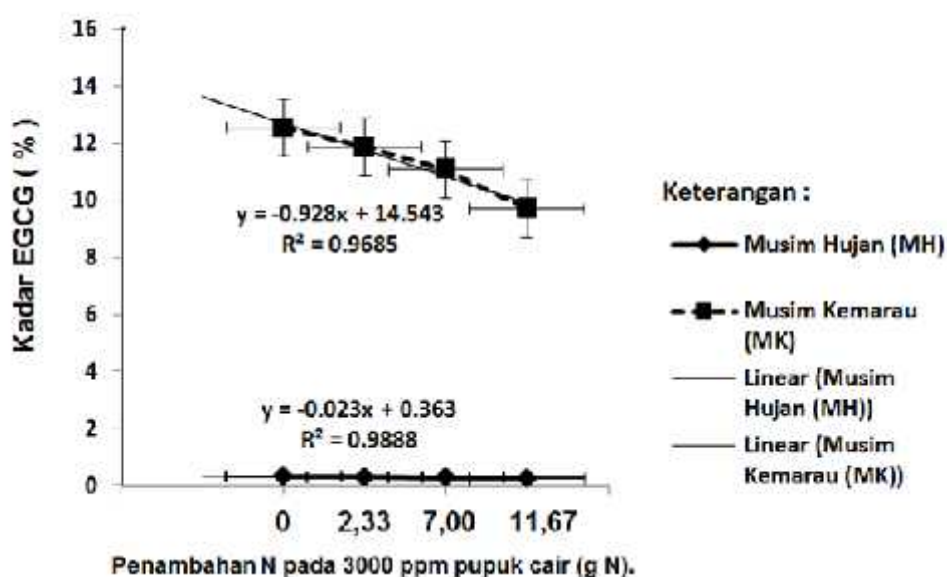
disebabkan karena kandungan total konsentrasi ion N dalam formula tersebut berada pada kisaran konsentrasi di atas rata-rata kebutuhan tanaman (882,67 ppm) (Tabel 1). Besarnya konsentrasi tersebut cenderung berpengaruh terhadap penurunan kemampuan penyerapan hara oleh akar sehingga terjadi penurunan sintesis enzim-enzim yang berperan langsung pada jalur biosintesis metabolit sekunder EGCG.

Kadar EGCG pucuk teh musim hujan selalu lebih rendah dari musim kemarau. Hal ini disebabkan karena pada musim hujan jumlah curah hujan tinggi dengan interval waktu yang panjang, mengakibatkan banyak hara N yang terlindi (*leaching*) keluar dari area perakaran tanaman melalui aliran air perkolasi dan aliran air permukaan (*run off*) sehingga terjadi cekaman N yang berpengaruh terhadap penurunan biosintesis klorofil b^[22]. Pengaruh tersebut disebabkan karena kapasitas sintesis ANS (aktivitas *anthocyanidin synthase*) dan LAR (*leucocyanidin reduktase*) dalam pucuk teh. ANS adalah *2-oxoglutarate oxygenase-Fe* bebas yang menggunakan molekul oksigen sebagai *co-substrate*^[25] sedangkan LAR merupakan suatu enzim karakterisasi yang mempercepat konversi *leucocyanidin* menjadi (+) - catechin^[26]. Aktivitas LAR biasanya

menurun selama perkembangan jaringan pucuk dan daun muda^[27]. Penurunan aktivitas LAR akan meningkatkan aktivitas ANS dan berpengaruh terhadap akumulasi klorofil a yang lebih banyak dari klorofil b^[22]. Proporsi akumulasi klorofil a yang lebih tinggi dari klorofil b dalam pucuk teh berpengaruh terhadap akumulasi epikatekin (EC) dan epigalokatekin (EGC)^[24] dibandingkan dengan EGCG. Rendahnya kadar klorofil b daun di musim hujan berpengaruh terhadap penurunan kadar EGCG pucuk teh sehingga memiliki ketahanan yang rendah dan sangat rentan terhadap kerusakan di lapangan akibat stress oksidatif yang disebabkan oleh cekaman abiotik maupun cekaman biotik^[22]. Cekaman N berpengaruh langsung terhadap penurunan aktivitas enzim NR^[22] yang mengakibatkan penurunan sintesis kadar asam amino *L-phenilalanin*. Asam amino *L-phenilalanin* adalah prekursor enzim *phenilaline ammonia-lyase* (PAL) yang terlibat langsung dalam biosintesis Katekin melalui jalur biosintesis *shikimic acid* (Gambar 1). Selain itu unsur nitrogen merupakan salah satu komponen penting pembentuk *senyawa L-theanine* sebagai prekursor biosintesis katekin melalui jalur TCA (*Tricarboxylic acid*).



Gambar 2. Pengaruh Nitrogen terhadap sistesis enzim *Nitrate Reductase* (NR) and *Phenylalanine ammonia-lyse* (PAL) sebagai enzim kunci pada proses awal biosintesis katekin melalui jalur *Shikimic Acid*^[11].



Gambar 3. Grafik kandungan EGCG pucuk teh pada penambahan berbagai tingkat N pada pupuk cair pada musim hujan dan kemarau.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian pupuk cair tanpa penambahan N di musim kemarau berpengaruh terhadap peningkatan kandungan bahan aktif EGCG pucuk teh tertinggi yaitu 12,53 % (b/b). Penambahan N pada pupuk cair cenderung berpotensi terhadap penurunan kandungan EGCG pucuk teh. Semakin tinggi penambahan N pada pupuk cair (11,67 g N) semakin menurunkan biosintesis EGCG pucuk teh.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Towaha, J. 2013. Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camellia sinensis*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, Balitri. 19 (3): 12-16.
- [2] Anjarsari, I.R.D. 2016. Katekin Teh Indonesia : Prospek dan Manfaatnya. *Jurnal Kultivasi* 15 (2):
- [3] Ruan, J. 2005. Quality-Related Constituents in Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) as Affected by The Form and Concentration of nitrogen. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel and the supply of chloride. 96 p.
- [4] Sanyal, S. 2011. Tea Manufacturing Manual. Assam India: Tea Research Association Toklai Experimental Station. Page: 207.
- [5] Liu M., H-lu. Tian, J-Hua. Wu, R-Rong. Cang, R-Xian. Wang, X-Hua. Qi, Q. Xu and X-Hao. Chen. 2015. Relationship Between Gene Expression and The Accumulation of Catechin During Spring and Autumn in Tea Plants (*Camellia sinensis* L.). Citation: *Horticulture Research* 2, 15011; doi:10.1038/hortres. Nanjing Agricultural University.
- [6] Mitrowihardjo, S., W. Mangoendidjoya, H. Hartiko dan P. Yodono. 2009. Hasil Pucuk dan Kadungan Katekin Enam Klon Teh (*Camellia sinensis* (L.), O.

- Kuntze) di Ketinggian Berbeda. Jurnal Penelitian Teh dan Kina 12 (1-2): 14-20.
- [7] Mitrowihardjo, S., Woerjono, M. Hartiko, H dan P. Yudono. 2012. Kandungan Katekin dan Kualitas (Warna Air Seduhan, Flavor, Kenampakan) Enam Klon Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Di Ketinggian yang Berbeda. Agritech, Vol. 32, No. 2, Mei 2012.
- [8] Mokaya, B.N. 2016. Effect of varying rates of organic and inorganic fertilizers on growth, yield and nutrient use efficiency of clonal tea (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze). M.Sc. thesis, University of Nairobi, Kenya: 78.
- [9] Wang, Y. G., Q.K. Cheng, Y.C. Ruan and W.H. Liu, 1988. Discussion on The Chemical Standards on Quality of Chinese Roasted Green Tea. J. Tea Sci. 8(2): 13-20.
- [10] Tsuji M. dan T. Kinoshita 2001. Effect of Liquid Fertilizer Application Under The Canopy of Tencha Tea Garden. Aichi-Ken Agricultural Research Center, Toyohashi Research and Extension Station, 1148 Takayama Imure-cho, Toyohashi-shi, Aich~, 440-0833, Japan. <http://www.ocha-festival.jp/archive/english/conference/COS2001/files/PROC/II-198.pdf>.
- [11] Li, S. 2005. The Effect of Plant Mineral Nutrition on Yield and Quality of Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Under Field Conditions. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. 173 p.
- [12] Hamid F.S., Ahmad T, Waheed A, Ahmad N and S. Aslam, 2014. Effect of Different Levels of Nitrogen on the Chemical Composition of Tea (*C. sinensis* L.) grown at higher altitude. J. Mater. Environ. Sci. 5 (1) : 73-80.
- [13] Dalimoenthe, S.L. dan Y. Rachmiati. 2010. Pengaruh Pemupukan K dan ZPT pada Tanaman Teh untuk Mengurangi Resiko Musim Kemarau. Jurnal Penelitian Teh dan Kina 13 (1-2):14-21.
- [14] Kumar, R., Singh M and B. Bera. 2015. Influence of Organic, Inorganic and Combined Based Fertilizers on Bush Physiology of Darjeeling tea (*Camellia sinensis* L.). International Journal of Basic and Applied Biology, Volume 2(4): 265-271.
- [15] Yang L., Wen K.S, Ruan X, Zhao Y.X, Wei F, and Q. Wang. 2018. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. Molecules 23, 762; doi:10.3390/molecules23040762.
- [16] Ahmed S, Stepp J.R, Orians C, Griffin T, Matyas C, Robbat A, Cash S, Xue D, Long C, Unachukwu U, Buckley S, Small D, and E. Kennelly. 2014. Effects of Extreme Climate Events on Tea (*Camellia sinensis* L.) Functional Quality Validate Indigenous Farmer Knowledge and Sensory Preferences in Tropical China. Journal Plos One vol 7(10):e109126.
- [17] Resh H.M. 1981. Hydroponic Food Production. Woodbrigde Press Publishing Company, Santha Barbara, California. 335 p.
- [18] Douglas J.S. 1985. Edvanced Guide to Hydroponics (soilless cultivation) . Pelham Books LTD. London. p.368.
- [19] Sundstrom A.C. 1982. Simple Hidroponics for Australian Home. Gardeners Thomas Nelson Australia. Melbourne. 134 p.
- [20] Hukom Z.F.M. 2000. Pengaruh Kadar Larutan Landeto dan Gandasil Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Buncis Tegak (*Phaseolus vulgaris* L.) yang Dibudidayakan Secara Hidroponik. Tesis Fakultas Pertanian UGM. Tidak dipublikasikan.
- [21] Taulo J.L. 2017. A Multi-Objective Optimization Tool for The Malawian Tea Industry with Sustainability Conciderations. Disseratation Presented for The Degree of Doctor of Philosophy in The Faculty of Engineering of

- Stellenbosch University,
<https://scholar.sun.ac.za>. p.202.
- [22] Hukom Z.F.M. 2020. Pengaruh Penambahan Nitrogen pada Pupuk Cair dan Musim Terhadap Produktivitas dan kadar Epigallocatechine Gallate (EGCG) Pucuk teh. Disertasi Program Ilmu Pertanian. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. 168 p.
- [23] Goodwin, T.G. and E.I. Mercer. 1983. Introduction to Plant Biochemistry Second Edition, Copyright 1983, reprinted 1990. Pergamon Press plc. 645: 4465-479.
- [24] Tounekti T, Joubert, E, Hernández I and S. Munné-Bosch. 2012. Improving the Polyphenol Content of Tea. Critical Reviews in Plant Sciences Publication details, including instructions for authors and subscription information: <http://www.tandfonline.com/loi/bpts20>. Akses Desember 2018. Towaha, J. 2013. Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camellia sinensis*). Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri , Balitri. Volume 19 no.3 Desember 2013. p. 12-16.
- [25] Cheng L, Xu Y, Grotewold E, Jin Z, Wu F, and C. Fu. 2007. Characterization of anthocyanidin synthase (ANS) gene and anthocyanidin in rare medicinal plant – *Saussureamedusa*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 89: 63–73.
- [26] Abrahams S, Tanner G.J, Larkin P.J, and A.R. Ashton. 2002. Identification and biochemical characterization of mutants in the proanthocyanidin pathway in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 130: 561–576.
- [27] Skadhauge B, Gruber M.Y, Thomsen K.K, and D. Vonwettstein. 1997. Leucocyanidin reductase activity and accumulation of proanthocyanidins in developin legume tissues. Am. J. Bot. 84: 494–503.