

**PENGUJIAN TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
PELEPAH DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*) DENGAN PELARUT
EKSTRAKSI YANG BERBEDA**

SKRIPSI

OLEH :

**HANIF NAUFAL AHMI
NIM. 135080300111058**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGUJIAN TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
PELEPAH DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*) DENGAN PELARUT
EKSTRAKSI YANG BERBEDA**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

OLEH :

**HANIF NAUFAL AHMI
NIM. 135080300111058**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

SKRIPSI

PENGUJIAN TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK PELEPAH DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*) DENGAN PELARUT EKSTRAKSI YANG BERBEDA

OLEH :
HANIF NAUFAL AHMI
NIM. 135080300111058

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS.)

(Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP)

NIP.19570119 198601 1 001

NIP. 19581231 198601 2 002

Tanggal : 18 JUL 2018

Tanggal : 18 JUL 2018

Mengetahui,
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 18 JUL 2018



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : PENGUJIAN TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK PELEPAH DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*) DENGAN PELARUT EKSTRAKSI YANG BERBEDA

Nama Mahasiswa : HANIF NAUFAL AHMI
NIM : 135080300111058
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Dr. Ir. BAMBANG BUDI SASMITO, MS
Pembimbing 2 : Dr. Ir. TITIK DWI SULISTİYATI, MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. ANIES CHAMIDAH, MP
Dosen Penguji 2 : Ir. SRI DAYUTI, MP
Tanggal Ujian : 28 Juni 2018



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, 16 Juli 2018
Mahasiswa

Hanif Naufal Ahmi
NIM.135080300111058

UCAPAN TERIMA KASIH

Pelaksanaan penulisan laporan yang berjudul “Pengujian Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelepah Daun Nipah (*Nypa Fruticans*) Dengan Pelarut Ekstraksi Yang Berbeda” ini dapat dilaksanakan dengan baik atas keterlibatan pihak-pihak yang telah dengan tulus ikhlas memberikan bimbingan dan bantuan. Untuk itu, melalui kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Kedua Orang tua yang luar biasa (Bapak Ahmad Mubin & Ibu Umi Zaenab), dan seluruh keluarga atas motivasi, kasih sayang, perhatian dan doanya.
3. Bapak Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito MS. selaku dosen pembimbing dan Ibu Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiati, MP selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan sehingga laporan ini dapat tersusun.
4. Terima kasih sedalam-dalamnya untuk Puspita Dwi Lestari yang telah mendukung hingga akhir masa studi
5. Teman-teman satu bimbingan dan seperjuangan skripsi khususnya Farah R, Rani, Habibi, Naning, Mukholif, Daniar, Aji, Tika yang selalu membantu sejak penelitian sampai skripsi, sehingga penelitian dan laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Kalian luar biasa rek
6. Sahabat-sahabat SLM '13 yang selalu menemani di setiap proses perkuliahan ini. Sahabat di Joyosuko 7 yang telah bersedia kosnya ditempati setiap malam untuk mengerjakan laporan. Dan tidak lupa sahabat saya yang lain di THP 2013 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
7. Teman-teman satu bimbingan pak Bambang yang luar biasa

8. Teman-teman THP angkatan 2013, yang telah memberikan bantuan, motivasi dan semangat.
9. Serta seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, yang telah membantu terselesainya Laporan Skripsi ini.

Malang, 16 Juli 2018

Penulis



RINGKASAN

HANIF NAUFAL AHMI. Pengujian Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelepah Daun Nipah (*Nypa Fruticans*) Dengan Pelarut Ekstraksi Yang Berbeda. Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS** dan **Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**

Tumbuhan mangrove mempunyai banyak sekali manfaat, tidak hanya dari segi ekologi namun ada bagian dari mangrove mengandung beberapa senyawa bioaktif yang memiliki sifat obat dan dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan tubuh manusia. Oleh karena itu, berbagai bahan alam asli Indonesia yang mempunyai manfaat sebagai antioksidan diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau. antioksidan sintesis yang diproduksi secara kimia dianggap kurang aman dan dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis, sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan dan dipandang lebih aman karena diperoleh dari ekstrak bahan alami. Antioksidan alami dapat diperoleh dari berbagai sumber, salah satunya adalah tumbuhan mangrove jenis nipah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah pelepah daun nipah merupakan sumber antioksidan dan senyawa antibakteri. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Juni hingga Agustus 2017.

Penelitian ini dilakukan dibagi menjadi dua yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Menggunakan 2 perlakuan pada sampel yaitu pelepah segar dan tepung pelepah, dengan 3 pelarut yaitu n heksan, etil asetat dan metanol. Penelitian pendahuluan meliputi preparasi bahan, ekstraksi, perhitungan rendemen, kadar air, dan uji fitokimia. Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian pendahuluan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 6 ulangan. Pada penelitian utama meliputi uji toksisitas, uji aktivitas antioksidan, uji total fenol, dan uji LCMS. Pada penelitian utama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan, dengan uji F pada taraf 5% dan jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT pada taraf 5%.

Hasil penelitian ini didapatkan nilai rendemen tertinggi sampel pelepah segar yaitu pada ekstrak pelarut metanol yaitu 11,58% dan terendah pada pelarut n-heksan 7,06%, untuk tepung pelepah tertinggi yaitu ekstrak pelarut metanol sebesar 16,43% dan terendah ekstrak pelarut n heksan 10,3%. sedangkan pada pelarut etil asetat didapatkan nilai rendemen 3,70%. Pada uji kadar air pada sampel pelepah segar didapatkan hasil tertinggi yaitu ekstrak metanol sebesar 13,28% dan terendah pada ekstrak n heksan sebesar 8,33%. Pada sampel tepung pelepah didapatkan hasil tertinggi pada ekstrak metanol sebesar 12,53% dan terendah yaitu ekstrak n heksan sebesar 7,67%. Pada uji fitokimia pada sampel pelepah segar dan tepung pelepah pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan tanin.pada pelarut etil asetat mengandung flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Pada uji toksisitas didapatkan nilai LC₅₀ tertinggi yaitu pada pelarut n-heksan dengan nilai 257,59 ppm dan terendah pada pelarut metanol dengan nilai 210,16 ppm. Pada hasil uji aktivitas antioksidan nilai IC₅₀ tertinggi pada ekstrak n heksan sebesar 173,88

ppm dan terendah pada ekstrak metanol sebesar 149,71 ppm. Hasil uji total fenol didapatkan nilai total fenol tertinggi pada ekstrak metanol sebesar 257,1883 mg GAE/100g. Sedangkan nilai terendah pada ekstrak n heksan sebesar 241,1367 mg GAE/100g. Hasil uji LCMS teridentifikasi mengandung senyawa *nootkatone*, *dopexamine* dan *bixin*.

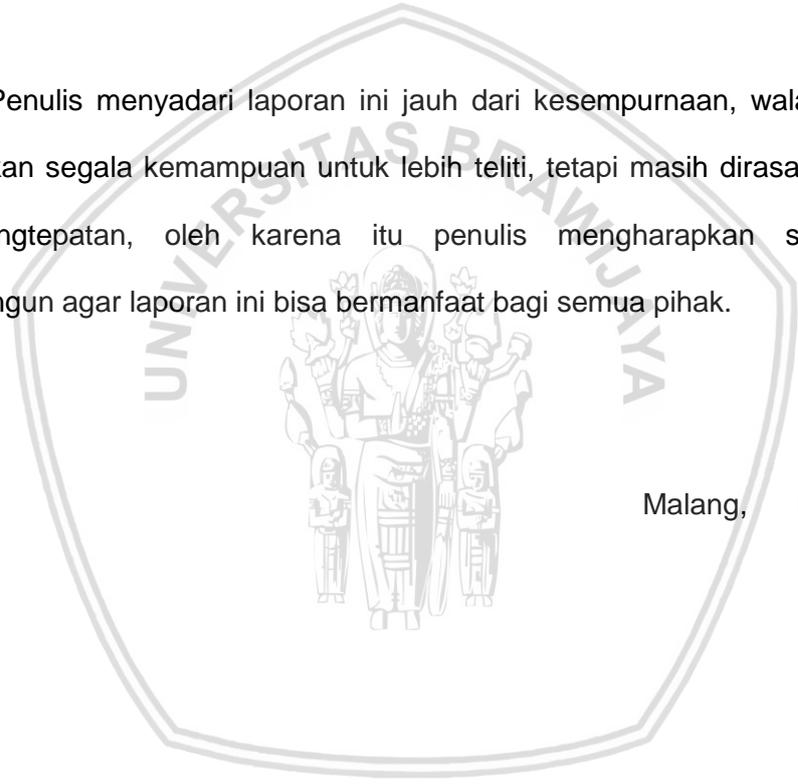


KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, dan bimbingan-Nya penulis bisa menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengujian Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelepah Daun Nipah (*Nypa Fruticans*). Laporan SKRIPSI ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Ucapan terima kasih sebesar- besarnya penulis sampaikan kepada:

Penulis menyadari laporan ini jauh dari kesempurnaan, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekeurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar laporan ini bisa bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Maret 2018



DAFTAR ISI

COVER.....	i
SKRIPSI	ii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN	viii
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Nypa fruticans</i>	4
2.2 Pengeringan.....	5
2.3 Ekstraksi	6
2.4 Pelarut	9
2.5 Antioksidan	11
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan	16
2.8 Uji Toksisitas.....	16
2.8.1 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	17
2.8.2 <i>Artemia salina Leach</i>	17
2.9 Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometer	17
3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Desain Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	19
3.3 Bahan dan Alat	19
3.3.1 Bahan.....	19
3.3.2 Alat.....	20
3.4 Metode Penelitian	20
3.4.1 Variabel Penelitian.....	21

3.4.2	Rancangan Penelitian Pendahuluan.....	21
3.4.4	Sampling dan Peta lokasi	23
3.4.5	Pengambilan Sampel dari Pantai Clungup, Malang	23
3.4.6	Preparasi Sampel.....	23
3.4.7	Ekstraksi Sampel.....	25
3.4.8	Perhitungan Rendemen.....	27
3.4.9	Uji Fitokimia.....	27
3.4.10	Uji Kadar Air	31
3.4.11	Uji Toksisitas Menggunakan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> . 31	
3.4.12	Pengujian Aktifitas Antioksidan Metode DPPH	33
3.4.13	Pengujian Total Fenol.....	34
3.4.14	Analisis <i>Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometry</i>	34
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1	Ekstraksi Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	36
4.2	Rendemen	36
4.2	Kadar Air.....	38
4.3	Fitokimia Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	39
4.4	Uji Toksisitas Ekstrak Tepung Pelepah Daun <i>Nypa Fruticans</i>	40
4.5	Uji Total Fenol Ekstrak Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	42
4.6	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i> ..	43
4.7	Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan Ekstral Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	46
4.8	Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan Uji <i>Liquid Chromatograph Mass Spectrometry</i> (LCMS)	47
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1	Kesimpulan	51
5.2	Saran	51
	DAFTAR PUSTAKA.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mangrove <i>Nypa fruticans</i>	5
2. Wilayah Pengambilan Sampel Peneliti	23
3. Prosedur Preparasi Sampel Segar	24
4. Prosedur Preparasi Sampel Kering	25
5. Proses Ekstraksi Sampel Pelepah Segar dan Tepung Pelepah	26
6. Skema Pengujian Alkaloid	28
7. Skema Pengujian Alkaloid	29
8. Prosedur Pengujian Flavonoid	29
9. Prosedur Pengujian Steroid	30
10. Prosedur Pengujian Steroid	31
11. Prosedur Penyiapan Larva Artemia	32
12. Prosedur Pengujian Toksisitas	33
13. Skema Analisis Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS	35
14. Grafik Rata-Rata Rendemen Ekstrak Sampel	37
15. Grafik Rata-Rata Kadar Air	38
16. Grafik Rata-Rata Toksisitas Sampel	40
17. Rata-rata Total Fenol Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	42
18. Rata-rata Nilai IC50 Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	44
19. Hubungan Nilai Total fenol dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	46
20. Kromatogram Ekstrak Metanol Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	48
21. Spektrum Massa Waktu Retensi 7.75	48
22. Spektrum Massa Waktu Retensi 8.27	49
23. Spektrum Massa Waktu Retensi 9.00	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Percobaan Penelitian Pendahuluan	22
2. Rancangan Percobaan Penelitian Utama	22
3. Hasil Uji Fitokimia Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kadar Air <i>Nypa fruticans</i> dengan Pelarut yang Berbeda	55
2. Hasil Kadar Air Ekstrak Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	56
3. Perhitungan ANOVA (Analysis of Variance) Kadar Air Ekstrak Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	57
4. Hasil Rendemen Ekstrak Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	58
5. Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi Bertingkat Pelepah Daun <i>Nypa fruticans</i>	60
6. Hasil Pengujian Standar Asam Galat	61
7. Data Uji Total Fenol Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	63
8. Perhitungan Total fenol Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	64
9. Perhitungan ANOVA (Analysis of Variance) Total Fenol Ekstrak Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	65
10. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Toksisitas	67
11. Data Uji Toksisitas Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i> terhadap <i>Artemia salina</i>	70
12. Tabel Probit % Mortalitas	71
13. Perhitungan Toksisitas Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	72
14. Perhitungan ANOVA Toksisitas Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	75
15. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM dalam 100 mL Metanol	76
16. Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Aktivitas Antioksidan	77
17. Perhitungan Konsentrasi Vitamin C (2, 4, 8, 16 dan 32 ppm)	79
18. Data Uji Antioksidan Ekstrak Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	80
19. Perhitungan IC ₅₀ Antioksidan Bebas Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	81
20. Perhitungan ANOVA Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Pelepah <i>Nypa fruticans</i>	83
21. Dokumentasi Penelitian	85

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan dari sumber tanaman telah menjadi perhatian konsumen yang semakin meningkat karena antioksidan sintetis seperti butylated hydroxy toluene (BHT) telah dibatasi penggunaannya dalam makanan, karena aktivitas karsinogenik (Jacob *et al.*, 2013). Menurut Thompson dan Moldeus (1988) BHT telah terbukti meningkatkan karsinogenesis, menyebabkan kerusakan paru pada tikus, dan nekrosis hati dan kematian pada tikus. Studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa konsumsi sayuran dan buah-buahan yang mengandung antioksidan alami dapat menurunkan kejadian beberapa jenis kanker, penyakit kardiovaskular, dan diabetes. Efek menguntungkan ini terkait dengan senyawa bioaktif seperti asam fenolik, flavonoid, anthocyanin, dan karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan. (Nagendra *et al.*, 2013)

Nypa fruticans Wurmb. merupakan famili dari Araceae dan dianggap sebagai tanaman yang "kurang dimanfaatkan". Sinonim lain dari tanaman ini meliputi *Cocos nypa* Lour., *Nypa fruticans* Thunb., dan *Nypa palm*. Ini adalah monoecious yang tumbuh di air payau dengan tangkai tegak, tanpa buah yang ditemukan biasanya muncul dari tanah. Tumbuhan ini biasanya ditemukan di India, Malaysia, Indonesia, Filipina, dan di beberapa bagian Queensland, Australia (Nagendra *et al.*, 2013).

Tumbuhan nipah (*Nypa fruticans*) telah biasa dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional seperti obat sakit perut, diabetes dan obat penurun panas oleh masyarakat pesisir Perairan Banyuasin Sumatera Selatan. Di Kalimantan arang dari akar nipah digunakan sebagai obat sakit gigi dan sakit kepala. (Ika *et al.*, 2013)

Penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa tanaman nipah memiliki kandungan senyawa bahan aktif antioksidan dan antibakteri. Senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil pada struktur molekulnya yang mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas dan apabila gugus hidroksilnya lebih dari satu maka aktivitas antioksidannya semakin kuat. Nipah mengandung senyawa seperti flavonoid, steroid, tannin, saponin, fenol hidroquinon dan diterpen yang disinyalir dapat berperan sebagai antioksidan (Imra *et al.*, 2016)

Ekstrak daun nipah mengandung senyawa kimia aktif antara lain; flavonoid, tanin, fenol hidroquinon, diterpen, steroid dan saponin. Senyawa-senyawa aktif yang umumnya berperan sebagai antioksidan dan antibakteri yakni tanin, flavonoid, saponin dan steroid. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) (Imra *et al.*, 2016). Senyawa flavonoid, saponin, terpenoid, fenolik dan tanin juga merupakan senyawa aktif yang berfungsi sebagai bahan antimikroba (Ajizat, 2004)

Metode pengujian BSLT menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah, dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan (Lany *et al.*, 2006). Pengujian toksisitas ini digunakan untuk melihat apakah sampel yang kita uji bersifat toksik atau tidak untuk selanjutnya menentukan nilai LC_{50} nya.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian dengan judul "Pengujian Toksisitas dan Antioksidan Ekstrak Pelelah Daun Nipah (*Nypa fruticans*).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pelarut ekstraksi yang berbeda terhadap tingkat aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan :

Untuk mengetahui apakah pelepah daun nipah merupakan sumber antioksidan dan berpotensi sebagai antibakteri

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Perbedaan pelarut saat ekstraksi pelepah daun *Nypa fruticans* memberikan pengaruh pada nilai LC_{50} dan IC_{50} ekstrak

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi pelepah daun nipah yang masih belum banyak dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan dan juga untuk mengetahui apakah pelepah daun nipah berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini diharapkan selain menyadarkan masyarakat tentang potensi tumbuhan nipah juga mengurangi penggunaan antioksidan sintesis.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi *Nypa fruticans*

Nipah merupakan salah satu jenis utama penyusun hutan mangrove dengan komposisi sekitar 30% dari total luas area mangrove. Berdasarkan data citra estimasi luas mangrove adalah 3.244.018,46 ha, sehingga diperkirakan 973.205,54 ha hutan nipah di Indonesia (Hartini *et al.*, 2010). Seperti jenis palem umumnya yang memiliki berbagai kegunaan, nipah (*Nypa fruticans*) berpotensi sebagai bahan pangan yang cukup banyak mengandung karbohidrat, lemak, protein dan vitamin (Sardjono, 1992). Selain itu, nipah juga memiliki beragam potensi untuk kebutuhan sehari-hari, seperti bahan bakar, bahan atap rumah, bahan kerajinan, dan produk lainnya, namun potensinya sampai saat ini belum dimanfaatkan secara maksimal.

Nipah adalah tumbuhan tropis. Rrata-rata suhu minimum pada daerah pertumbuhannya adalah 20°C dan maksimumnya 32-35°C. iklim optimum adalah agak lembab sampai lembab dengan curah hujan lebih dari 100 mm perbulan sepanjang tahun. Nipah tumbuh subur hanya pada lingkungan air yang asin. Jarang dijumpai langsung di pantai. *Nypa fruticans* banyak ditemukan disepanjang sungai yang terpengaruh pasang surut laut. Tanaman ini tumbuh rapat bersama dan biasanya membentuk komunitas yang luas disepanjang sungai dekat muara hingga sungai dengan air payau. Bentuk buahnya bulat seperti buah pandan dengan panjang bonggol hingga 45 cm (Kitamura *et al.*, 1997). Kondisi optimum adalah bagian dasar palem dan rimpangnya terendam air asin secara reguler. Karena itu nipah mendiami daerah muara sungai yang masih terkena arus pasang surut dari laut. Konsentrasi garam optimum adalah 1-9 per mil. Tanah rawa nipah berlumpur dan kaya akan endapan alluvial, tanah

liat dan humus; tanahnya mengandung kalsium, sulfur, besi dan mangan tinggi, yang mempengaruhi aroma dan warna gelapnya. pH sekitar 5; kandungan oksigen rendah kecuali lapisan paling atas. Biasanya nipah dapat membentuk tegakan murni, tetapi di beberapa daerah tumbuh bercampur dengan pohon bakau yang lain (Flach dan Rumawas. 1996). Klasifikasi *Nypa fruticans* menurut Ditjenbun (2006) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Liliopsida
 Ordo : Arecales
 Famili : Arecaceae
 Genus : *Nypa*
 Spesies : *Nypa fruticans* Wurm

Mangrove jenis *Nypa fruticans* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pohon *Nypa fruticans* (Nagendra et al., 2017)

2.2 Pengerinan

Pengerinan adalah kegiatan yang paling penting dalam pengolahan tanaman obat. Selain itu kualitas produk yang digunakan sangat dipengaruhi oleh proses pengerinan yang dilakukan (Mahapatra et al., 2009). Pemilihan proses pengerinan yang tepat akan menghasilkan simplisia dengan kualitas yang baik dan memiliki kandungan bahan aktif, warna serta metabolit sekunder yang tinggi (Hermani dan Rahmawati, 2009).

Ada banyak metode pengeringan yang biasa digunakan dalam pengolahan tanaman obat yaitu pengeringan dengan sinar matahari, pengeringan dengan oven, dan kering angin. Pengeringan dengan sinar matahari langsung merupakan metode yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, tapi dari segi kualitas alat pengering buatan akan memberikan hasil yang lebih baik. Hal ini dikarenakan sinar UV dari matahari dapat menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang di keringkan (Pramono, 2006). Pada pengeringan pelepah bisa menggunakan oven agar suhu pengeringan stabil dikarenakan lapisan pelepah yang cukup tebal.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan padat atau cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa ikut melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari suatu campuran dan dapat dilakukan dengan berbagai metode (Miryanti *et al.*, 2011).

Beberapa faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak pada proses ekstraksi diantaranya yaitu faktor kimia seperti jenis dan jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan (Arifianti *et al.*, 2014). Terdapat berbagai macam metode ekstraksi antara lain maserasi, *ultrasound – assisted solvent extraction*, perkolasi, *reflux* dan destilasi uap (Mukhrani, 2014). Metode ekstraksi sonikasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dapat meningkatkan rendemen ekstrak yang dihasilkan dengan waktu yang lebih cepat yaitu 15 menit sehingga lebih efisien.

2.3.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan

dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

2.3.2 *Ultrasound - Assisted Solvent Extraction*

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultrasonik dan ultrasound. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhriani, 2014).

2.3.3 Ekstraksi Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area.

Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

2.3.4 Ekstraksi Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

2.3.5 Ekstraksi Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

2.3.6 Ekstraksi Sonikasi

Metode ekstraksi sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dan pelarut meskipun pada suhu ruang. Hal ini menyebabkan proses perpindahan

massa senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat. Sonikasi mengandalkan energi gelombang yang menyebabkan proses kavitasi, yaitu proses pembentukan gelembung-gelembung kecil akibat adanya transmisi gelombang ultrasonik untuk membantu difusi pelarut ke dalam dinding sel tanaman (Nurchayanti, 2014).

2.4 Pelarut

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain harganya murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi, diantaranya etanol, metanol, etil asetat, heksana, dan air yang mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Jadi pelarut polar akan cenderung lebih melarutkan larutan yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar (Miryanti *et al.*, 2011). Ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap ekstraksi maupun bertingkat. Pada ekstraksi satu tahap hanya digunakan satu pelarut untuk ekstraksi, sedang pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut (Septiana dan Asnani, 2012).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sampel harus dapat melarutkan semua zat yang terkandung dalam sampel dengan cepat dan sempurna, dan sedikit mungkin melarutkan bahan seperti lilin, pigmen, serta harus bersifat selektif. Pelarut yang dipilih baiknya memiliki titik didih yang cukup rendah, agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi. Selain itu juga pelarut tidak boleh larut dalam air, harus bersifat inert agar tidak bereaksi dengan

komponen sampel ekstrak. Harga pelarut harus serendah mungkin, dan tidak mudah terbakar (Munawaroh dan Handayani, 2010).

Jenis pelarut pengestraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014). Jenis pelarut diantaranya pelarut polar (air, etanol dan metanol), pelarut semipolar (etil asetat dan diklorometan) dan pelarut nonpolar (n-heksan, petroleum eter dan kloroform) (Mukhriani, 2011).

2.4.1 N-heksan

Heksan merupakan senyawa hidrokarbon alkana. Heksan memiliki rumus kimia C_6H_{14} . Awalan heks- merujuk pada enam atom karbon yang ada pada heksan sedangkan akhiran -ana berasal dari alkana yang menunjukkan adanya ikatan tunggal penghubung atom-atom karbon. Pada keadaan standar, n-heksan merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air. Bobot molekul n-heksan sebesar 86,2 gram/mol. N-heksan memiliki titik lebur sebesar $-95^{\circ}C$, titik didih $69^{\circ}C$ (pada 1 atm) dan densitasnya sebesar 0,6603 gr/ml pada $20^{\circ}C$. Pemilihan n-heksana sebagai pelarut, karena n-heksana bersifat stabil dan mudah menguap, selektif dalam melarutkan zat, mengekstraksi sejumlah kecil lilin serta dapat mengekstrak zat pewangi dalam jumlah besar (Munawaroh dan Handayani, 2010).

2.4.2 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik yang merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil, tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menyari senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid pilohidroksi dan fenol yang lain (Mulyati, 2009).

2.4.3 Metanol

Methanol sering disebut metil alkohol, wood alcohol atau spiritus yang memiliki rumus kimia CH_3OH dan merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Methanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, sangat larut dalam air, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan dari pada etanol). Methanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar, dan sebagai bahan additif bagi etanol industri. Massa molar metanol adalah 32.04 g/mol dengan titik lelehnya -97°C dan titik didih sebesar 64.7°C dan titik didih sebesar 64.7°C (Nurul dan Zuliyana, 2010).

2.5 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Dalam pengertian kimia antioksidan adalah senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredakan dampak negatif oksidasi, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penuaan (Siagian, 2002).

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan

merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik. Alkaloid dapat berfungsi sebagai zat antioksidan (Tengo *et al.*, 2014).

Alkaloid banyak ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan, baik di bagian daun, biji, ranting dan kulit kayu. Alkaloid memiliki keaktifan biologis tertentu. Alkaloid dalam bidang kesehatan dapat memberikan efek memacu kerja sistem saraf, dapat menaikkan tekanan darah, sebagai antimikroba, dapat menjadi obat penenang dan penyakit jantung, serta dapat mengurangi rasa sakit. Pada tumbuhan, alkaloid berfungsi sebagai penguat, melindungi tumbuhan dari serangga dan hama, serta berfungsi untuk mengatur kerja hormon pada tumbuhan (Djoronga *et al.*, 2014).

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan derivat dari senyawa fenol. Secara umum, flavonoid merupakan senyawa dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Menurut fungsi fisiologisnya flavonoid dikelompokkan menjadi tiga berdasarkan fungsinya, yaitu antosianin (flavonoid yang berperan sebagai pigmen warna), flavonol dan flavon (perlindungan terhadap radiasi UV berlebih dan sebagai sinyal biologis), dan isoflavon (flavonoid biner yang banyak berperan sebagai senyawa pertahanan) (Pambudi *et al.*, 2014).

Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari dan akar dalam bentuk glikosida. Flavonoid diklasifikasikan menjadi

flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, isoflavon, calkon, dihidrokalkon, auron, antosianidin, katekin dan flavan-3,4-diol. Tanin, polifenol, dan flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan karena ketiga senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada cincin aromatik. Flavonoid berfungsi dalam mengatur pertumbuhan, fotosintesis, antimikroba dan antivirus pada tanaman. Flavonoid dan turunannya merupakan golongan polifenol yang banyak terdapat pada tanaman. Sifat penting dari golongan polifenol adalah kemampuannya bertindak sebagai antioksidan (Utari, 2016).

2.5.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan sehingga kandungan tanin dalam biji alpukat akan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Malangngi *et al.*, 2012).

Tanin merupakan komponen zat organik turunan polimer glikosida yang terdapat dalam bermacam-macam tumbuhan, terutama tumbuhan berkeping dua atau dikotil. Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks dan biasanya tergabung dengan karbohidrat rendah. Tanin mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dikatakan sebagai antioksidan. Tanin sangat efektif sebagai pendonor elektron dan atom hidrogen serta pengkelat logam, sebab senyawa ini

memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi yang memungkinkan terjadinya delokalisasi elektron (Utari, 2016).

2.5.4 Steroid dan Triterpenoid

Steroid merupakan turunan dari golongan senyawa triterpenoid. Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dari triterpena yaitu lanosterol dan saikoartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat. Golongan triterpenoid/steroid ditemukan hampir pada semua jenis tanaman mangrove. Golongan ini memiliki banyak manfaat, yaitu antiradang, antiinflamasi, antikarsinogenik dan pengontrol diabetes dalam uji klinis (Nurchayanti, 2014).

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik, yaitu squalene, senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi, dan bersifat optis aktif. Senyawa triterpenoid yang dapat dijumpai pada tumbuhan berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Utari, 2016). Triterpenoid dapat berfungsi sebagai antimikroba. Senyawa turunan terpenoid memiliki aktivitas antimikroba yaitu monoterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, saponin dan triterpenoid glikosida (Oktaviani *et al.*, 2015).

2.5.5 Saponin

Saponin termasuk dalam golongan glikosida yang umumnya banyak ditemukan pada tumbuhan, memiliki karakteristik berupa buih, mudah larut dalam pelarut polar dan tidak larut dalam pelarut non polar. Senyawa saponin bersifat antioksidan dan *radical scavenger* dengan membentuk hidrogen peroksida sebagai senyawa antara dan dapat menyumbangkan hidrogen pada senyawa radikal DPPH sehingga mengakhiri reaksi rantai radikal (Dia *et al.*, 2016).

Saponin diklasifikasikan menjadi 2 kelompok yaitu: saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C-27) dengan molekul karbohidrat, dapat dihidrolisis menghasilkan saraponin yang digunakan sebagai anti jamur dan dapat berkonjugasi dengan asam glukoronida. Saponin dapat digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis obat kortikosteroid. Contoh senyawa saponin steroid diantaranya adalah asparagosides (*Asparagus officinalis*), avenocosides (*Avena sativa*), disogenin (*Dioscorea floribunda* dan *Trigonella foenumgraceum*). Sedangkan saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Saponin jenis ini dapat dihidrolisis menghasilkan sapogenin. Sapogenin mudah dikristalkan melalui reaksi asetilasi sehingga dapat dimurnikan. Contoh senyawa saponin ini adalah turunan α -amyirine, sedangkan senyawa triterpensteroid adalah: Asiacosida (*Centella asiatica*), Bacoside (*Bacopa monneira*), Cyclamin (*Cyclamen persicum*) (Liem *et al*, 2013).

2.6 Uji Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun dan efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon (Ika, 2013).

Skrining fitokimia bertujuan mengetahui kandungan alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan saponin. Uji fitokimia merupakan suatu pemeriksaan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu simplisia tumbuhan. Uji tersebut dapat digunakan untuk membuktikan ada tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan untuk dapat dikaitkan dengan aktivitas biologinya

sehingga dapat membantu langkah-langkah fitofarmakologi (Artini *et al.*, 2003). Hasil analisis dapat memberikan petunjuk jenis golongan metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan triterpenoid (Astuti *et al.*, 2013).

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Liberty *et al.*, 2012).

Uji DPPH memiliki beberapa kelebihan antara lain merupakan metode uji yang dilakukan sederhana, cepat, murah, tidak spesifik untuk keterangan komponen antioksidan dan hanya digunakan untuk pengukuran kapasitas antioksidan total pada bahan pangan sehingga membantu untuk memahami sifat-sifat fungsional bahan pangan (Yulia, 2007).

2.8 Uji Toksisitas

Salah satu metode uji bioaktivitas senyawa bahan alam adalah uji letalitas larva udang atau *brine shrimp lethality test*. Uji toksisitas ini merupakan uji toksisitas awal suatu ekstrak sebelum dilakukan uji toksisitas akut atau uji aktivitas lainnya. Hasil uji ini dapat digunakan untuk menentukan batas atau kisaran konsentrasi ekstrak yang digunakan pada uji aktivitas (Fitriyani, 2009).

Pengujian toksisitas suatu sampel uji ditujukan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji (Syamsudin, 2014).

2.8.1 *Brine Shrimp Lethality Test*

Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan uji toksisitas untuk keamanan bahan pangan. Uji BSLT digunakan sebagai uji permulaan untuk mengetahui aktivitas dari suatu zat atau senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak atau suatu isolat murni. Uji tersebut merupakan metode alternatif menggantikan penelitian yang menggunakan hewan besar (Podungge *et al.*, 2015).

Uji toksisitas yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam dengan menggunakan *Artemia salina* (Herman *et al.*, 2014).

2.8.2 *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach atau *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan primitif yang diberi nama *Cancer salinus* oleh Linnaeus pada tahun 1778, dan pada tahun 1819 diubah oleh Lench menjadi *Artemia salina*. Hewan ini hidup planktonik diperairan yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil) dengan suhu berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, pH anantara 7,3-8,4. *Artemia salina* dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Nisfi, 2010). Dimana *Artemia salina* tersebut memiliki sifat peka terhadap bahan uji, waktu siklus yang cepat, mudah dibiakkan, dan murah (Fitriyani, 2009).

2.9 *Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometer*

Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) adalah suatu teknik analisis kimia yang mempunyai kemampuan pemisahan yang sangat bagus karena mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang sangat tinggi karena teknik ini menggunakan kombinasi tandem kromatografi cair dan spektroskopi massa.

LC-MS sangat umum digunakan dalam studi farmakokinetika terutama dalam hal pengembangan obat (Khairan *et al.*, 2009). Aplikasi dari teknologi ini luas dengan sistem yang praktis, tidak terbatas pada molekul volatile dan mampu mengukur analit yang sangat polar. Pengujian dengan metode ini juga fleksibel dengan waktu singkat, serta dapat menghasilkan data kuantitatif maupun kualitatif (Karisma, 2012).

Analisa dengan metode LC-MS menggunakan fasa gerak atau pelarut untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan di antara fasa gerak dan fasa diam tersebut, sehingga terjadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik menghasilkan spektra massa. Spektra massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Hermiastuti, 2013).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap sederhana (RAL). Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif eksploratif.

3.2 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium perekayasa hasil perikanan (PHP) Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Mulai juni sampai agustus 2017.

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelepah daun nipah. Pelepah daun nipah diperoleh dari kawasan pantai Clungup Kabupaten Malang. Daun nipah tua berwarna kuning sedangkan daun yang masih muda memiliki warna hijau begitu juga dengan pelepahnya. Bahan-bahan yang digunakan pada proses ekstraksi senyawa bioaktif pada sampel meliputi n-heksan, etil asetat, metanol, kertas saring, plastik wrap, aluminium foil dan kertas label. Setelah memperoleh ekstrak kasar, maka dilakukan pengujian fitokimia menggunakan bahan-bahan antara lain aquades, asam sulfat 2 N, asam sulfat pekat, HCl pekat, HCl 2 N, kloroform, etanol, pereaksi meyer, FeCl₃ 10%, serbuk magnesium, amonia pekat dan asam asetat anhidrat. Pada pengujian toksisitas menggunakan bahan antara lain air laut dan starter indukan telur *Artemia salina* Lench. Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan bahan antara lain methanol, DPPH, alumunium foil, kertas label dan asam askorbat.

3.3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat-alat untuk ekstraksi sampel daun mangrove nipah adalah timbangan digital, oven, *rotary evaporator*, gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, botol kaca, spatula dan corong. Alat yang digunakan untuk pengujian fitokimia yaitu tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass 100 ml, pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, spatula, labu ukur, bola hisap dan timbangan digital. Pada pengujian toksisitas menggunakan alat timbangan digital, mikro pipet, spatula, corong, botol vial, beaker glass, gelas ukur, aerator, selang, cover glass, bola hisap, pipet serologis dan pipet volume. Pada pengujian total fenol menggunakan alat gelas ukur, waterbath, labu ukur, beaker glass, pipet volume, timbangan analitik, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bola hisap dan spektrofotometri UV-Vis. Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan alat gelas ukur, beaker glass, botol vial, pipet serologis, bola hisap, pipet tetes spatula, spectofotometri UV-Vis.

3.4 Metode Penelitian

Metode eksperimen adalah suatu penelitian yang dengan sengaja peneliti melakukan manipulasi terhadap satu atau lebih variabel dengan suatu cara tertentu sehingga berpengaruh pada satu atau lebih variabel lain yang di ukur. Lebih lanjut dijelaskan, variabel yang dimanipulasi disebut variabel bebas dan variabel yang akan dilihat pengaruhnya disebut variabel terikat (Arboleda, 1987)

Metode ini bertujuan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih variabel pada satu atau lebih kelompok eksperimen dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi. (Eko, 2005)

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah suatu variabel yang apabila dalam suatu waktu berada bersamaan dengan variabel lain maka variabel itu (diduga) akan dapat berubah keragamannya dan biasanya diberi lambang X. Variabel terikat adalah variabel tergantung, variabel tak bebas, variabel terpengaruh biasanya diberi lambang Y. (Winarsunu, 2012)

Variabel bebas dari penelitian ini adalah perbedaan jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian ini. Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai toksisitas dan aktivitas antioksidan yang diukur dengan dengan LC50 dan nilai IC50 yang didapat dari akumulasi hasil masing-masing larutan ekstraksi.

3.4.2 Rancangan Penelitian Pendahuluan

Rancangan penelitian pendahuluan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap sederhana (RAL sederhana). Data kemudian diolah menggunakan ANNOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf 5%. Apabila nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka dapat dilakukan uji lanjut, diantaranya dengan uji Tukey dan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) (Sastrosupadi, 2000). Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui hasil fitokimia dari ekstrak pelepah daun mangrove *Nypa fruticans* diekstrak dengan metode maserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu dimulai dari pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat) dan polar (metanol) dengan dua perlakuan yaitu pelepah segar dan tepung pelepah. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Hasil ekstraksi diatas kemudian digunakan dalam penelitian utama. Adapun rancangan penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan Percobaan Penelitian Pendahuluan

Sampel	Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
	Bentukan	Pelarut	1	2	3		
Pelepah Daun Nipah	Pelepah segar	N	N ₁	N ₂	N ₃		
		E	E ₁	E ₂	E ₃		
		M	M ₁	M ₂	M ₃		
	Tepung pelepah	N	N ₁	N ₂	N ₃		
		E	E ₁	E ₂	E ₃		
		M	M ₁	M ₂	M ₃		

Keterangan:

N : Ekstraksi dengan pelarut N-heksan

A : Ekstraksi dengan pelarut Etil asetat

M : Ekstraksi dengan pelarut Metanol

3.4.3 Rancangan Penelitian Utama

Rancangan penelitian utama dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan toksisitas terbaik dari bentukan sampel dengan tiga pelarut yang berbeda, yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Pengujian dilakukan sebanyak 6 ulangan. Untuk mencari hasil terbaik data diolah menggunakan ANOVA. Rancangan percobaan penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Percobaan Penelitian Utama

Sampel	Pelarut	Ulangan					
		1	2	3	4	5	6
Bentukan terbaik	N-heksan						
	Etil asetat						
	Metanol						

3.4.4 Sampling dan Peta lokasi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel yang berasal dari tumbuhan nipah, yakni: pelepah daun nipah. Sampel diambil dari pantai clungup, Malang Jawa Timur dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Wilayah Pengambilan Sampel Peneliti

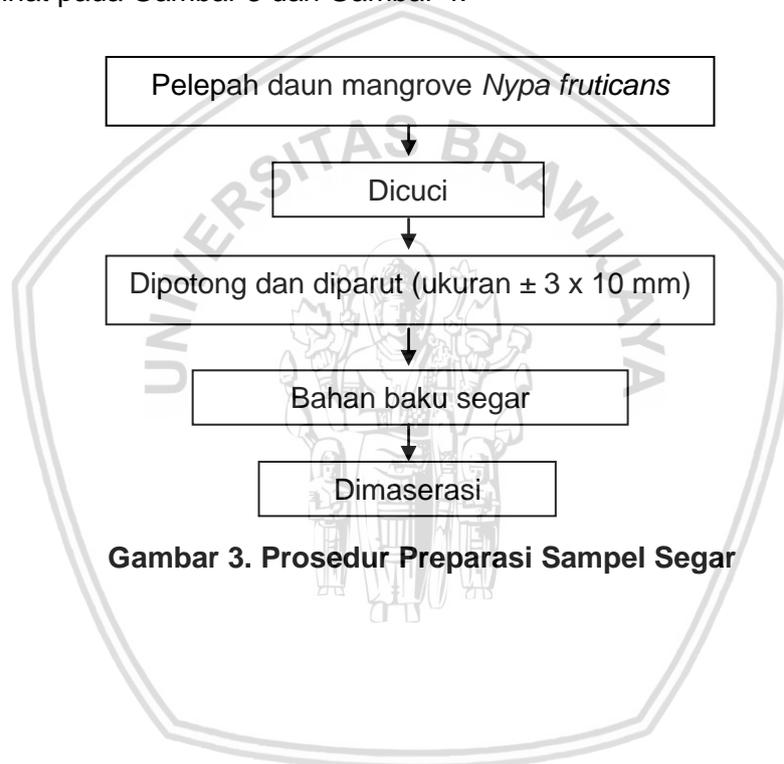
3.4.5 Pengambilan Sampel dari Pantai Clungup, Malang

Sampel untuk ekstraksi dan identifikasi senyawa antioksidan berasal dari mangrove *Nypa fruticans* yang diambil dari wilayah Clungup, Malang Jawa Timur. Sampel diambil pada bagian pelepah daun yang terdapat pada mangrove. Tidak ada spesifikasi khusus tentang umur tumbuhan, untuk pengambilan dipilih pada usia layak terbang. Tangkai pelepah ditebang dari batang mangrove untuk selanjutnya dipisah antara pelepah dan daunnya. Selanjutnya mangrove dimasukkan ke dalam kantong plastik. Setelah itu sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan penelitian.

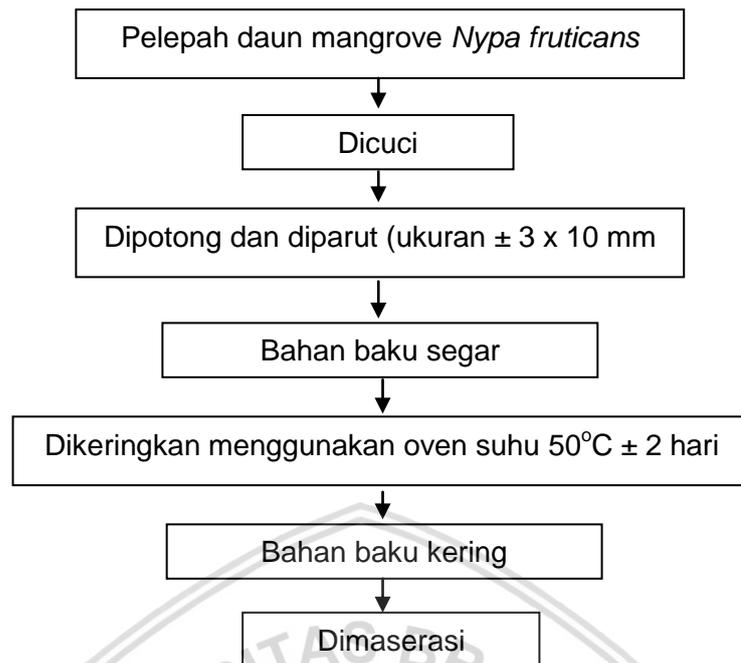
3.4.6 Preparasi Sampel (Wahyu *et al.*, 2015 dengan modifikasi)

Pelepah daun nipah yang masih segar setelah melewati tahap pencucian hingga bersih dan proses pengecilan ukuran dengan cara diparut. Sampel sebanyak 30 g dimasukkan *beaker glass* 500 ml lalu dimaserasi menggunakan 3 pelarut yaitu metanol, n-heksan, etil asetat dan disimpan selama 24 jam.

Perbandingan pelepah segar dan pelarut yaitu 1:4. Sedangkan untuk sampel dalam bentuk kering yaitu setelah proses pencucian dan pengecilan ukuran dilanjutkan dengan proses pengeringan sampel dengan oven suhu 50°C kurang lebih 2 hari. Perbandingan antara tepung pelepah dan pelarut yaitu 1:4. Menurut Chung dan Chang (1982), tujuan utama proses pengeringan adalah untuk mengurangi kandungan air dalam bahan, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba maupun reaksi kimia lainnya. Prosedur preparasi sampel dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



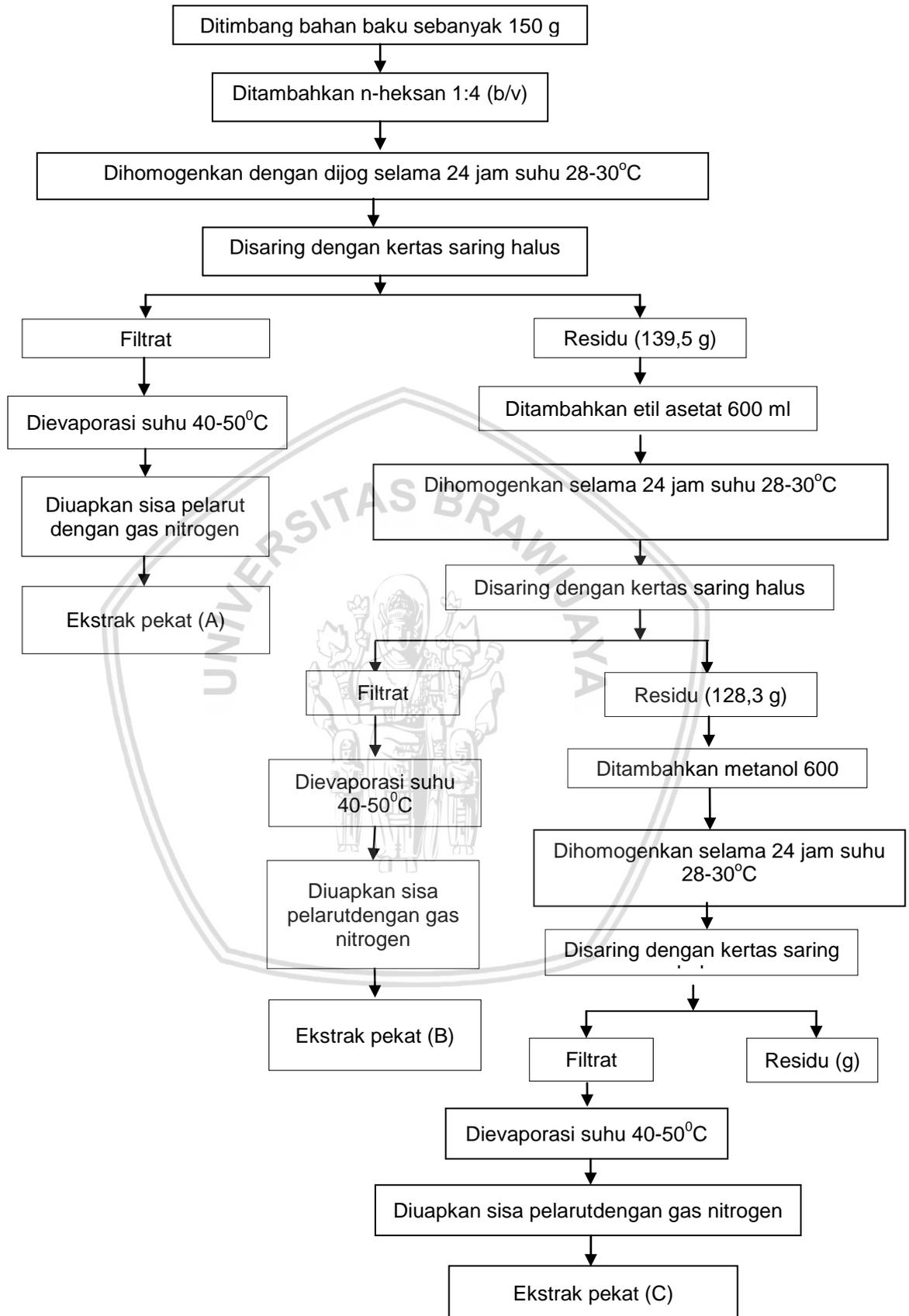
Gambar 3. Prosedur Preparasi Sampel Segar



Gambar 4. Prosedur Preparasi Sampel Kering (Wahyu *et al.*, 2015)

3.4.7 Ekstraksi Sampel (Ocky dan Ita, 2014 dengan modifikasi)

Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi bertingkat. Sampel direndam menggunakan 3 pelarut organik dengan tingkat polaritas yang berbeda yaitu metanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar). Maserasi bertingkat diawali dengan menggunakan pelarut n-heksana, kemudian etil asetat dan terakhir metanol. Bubuk simplisia *Nypa fruticans* 150 g dimaserasi dengan 600 ml pelarut (perbandingan 1: 4 w/v) selama 24 jam. Selanjutnya dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 – 65°C dan tekanan rendah (500-700 mmHg vakum). Prosedur ekstraksi sampel dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Proses Ekstraksi Sampel

3.4.8 Perhitungan Rendemen (Widya *et al.*, 2013 dengan modifikasi)

Pengujian pelepah nipah diperoleh dari berat ekstrak pelepah yang dihasilkan dibagi dengan berat pelepah yang digunakan. Perhitungan :

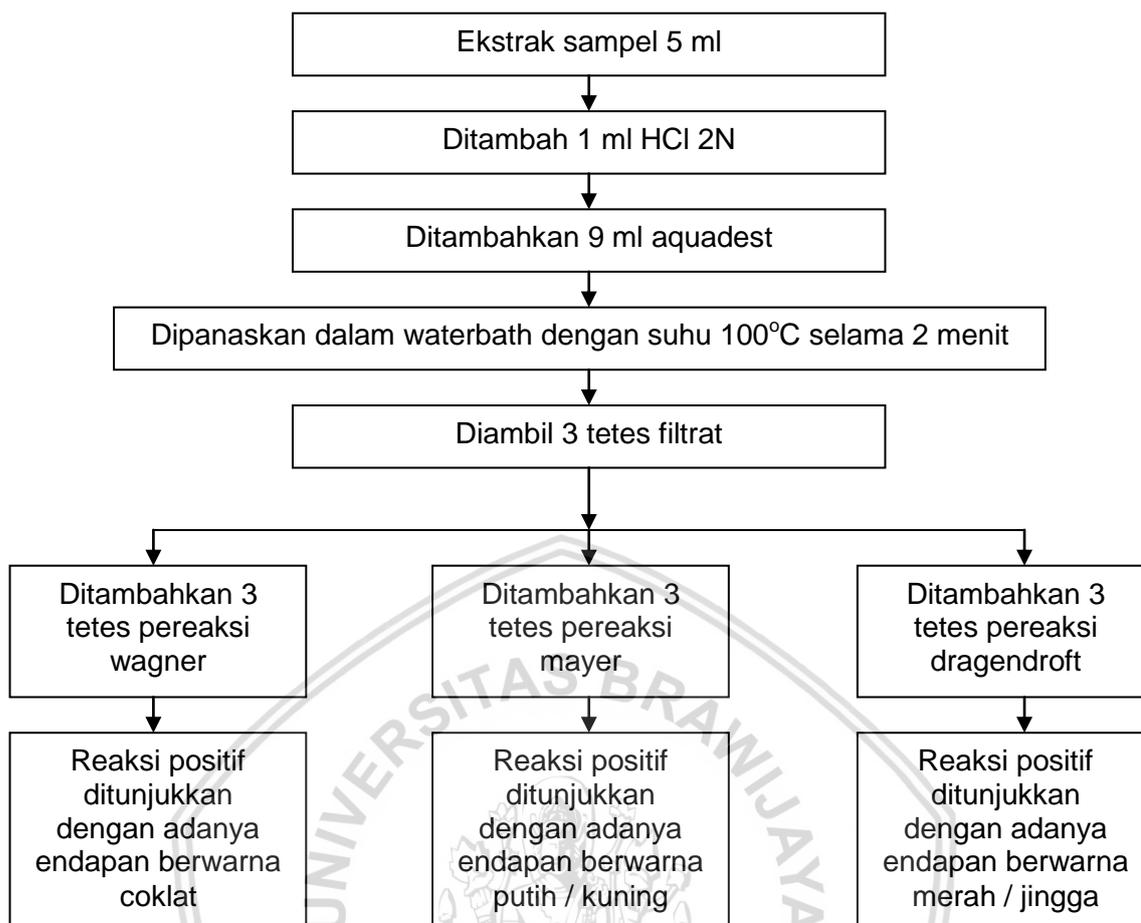
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

3.4.9 Uji Fitokimia (Ocky *et al.*, 2014 dengan modifikasi)

Ekstrak kasar *Nypa fruticans* dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, tannin, steroid, terpenoid, saponin, dan flavonoid.

a. Uji Alkaloid

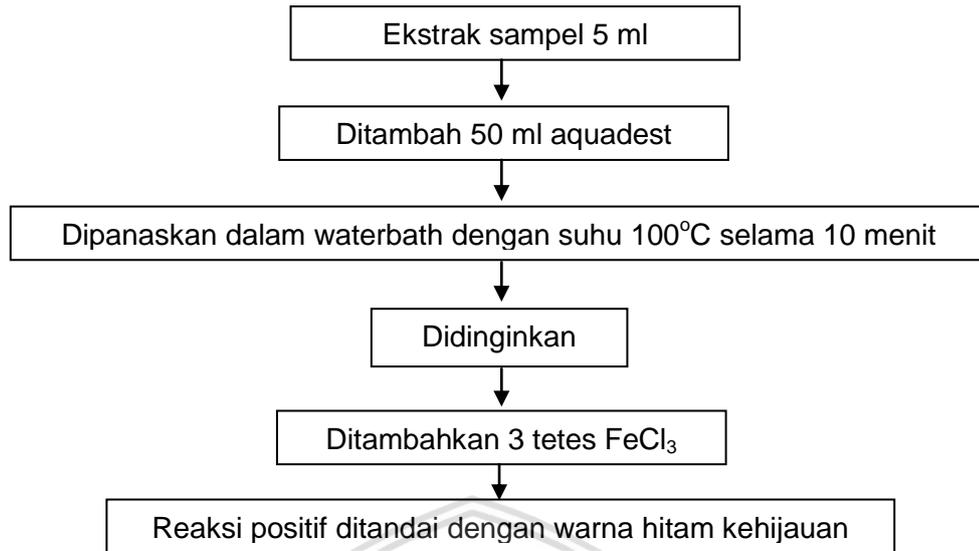
Sampel diuji kandungan senyawa alkaloid menggunakan prinsip mereaksikan ekstrak sampel dengan asam dan pereaksi Meyer. Ekstrak dari sampel sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu larutan disaring dan selanjutnya ditambahkan 2 N dan dikocok sampai terbentuk lapisan atas dan bawah. Larutan tersebut kemudian ditambahkan 1 tetes pereaksi Meyer, apabila positif alkaloid maka akan terbentuk endapan. Skema pengujian alkaloid dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema Pengujian Alkaloid (Harborne, 1987)

b. Uji Tannin (Marliana, *et al.*, 2005)

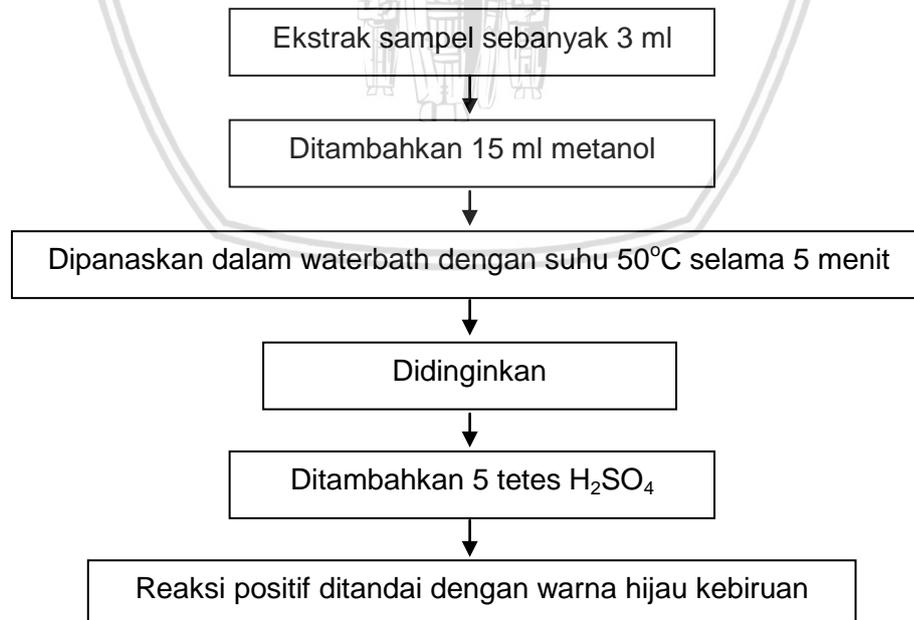
Ekstrak dari sampel sebanyak 3 ml ditambahkan aquades sebanyak 3 ml. Larutan tersebut ditambahkan 5 tetes NaCl 10% lalu disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian yaitu A, B, C. Filtrat A sebagai larutan blanko, filtrat B ditambahkan pereaksi FeCl_3 1% sebanyak 3 tetes, lalu filtrat C ditambahkan larutan garam gelatin. Kemudian diamati perubahan yang terjadi. Prosedur pengujian tannin dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Skema Pengujian Alkaloid (Harborne, 1987)

c. Uji Flavonoid (Darminto, *et al.*, 2009)

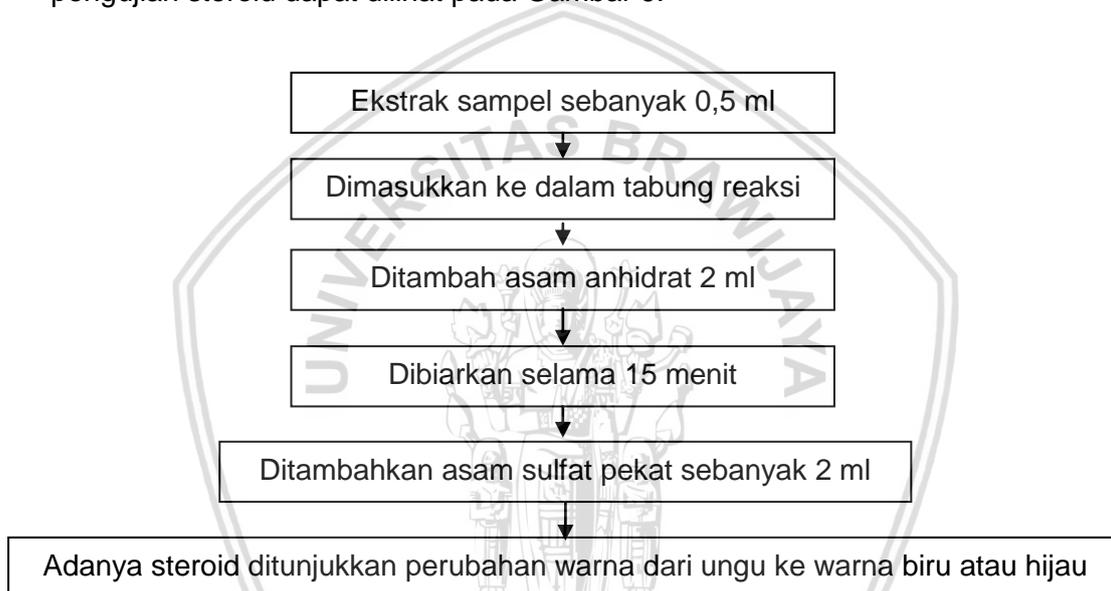
Ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan 2 ml etanol 95%, 0,5 g serbuk Mg, dan 2 ml HCN 2 N. Larutan didiamkan selama 1 menit, kemudian ditambahkan 2 ml HCN pekat. Larutan positif apabila terbentuk warna kuning sampai jingga. Prosedur pengujian flavonoid dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Prosedur Pengujian Flavonoid (Harborne, 1987)

d. Uji Steroid (Sangi *et al.*, 2008)

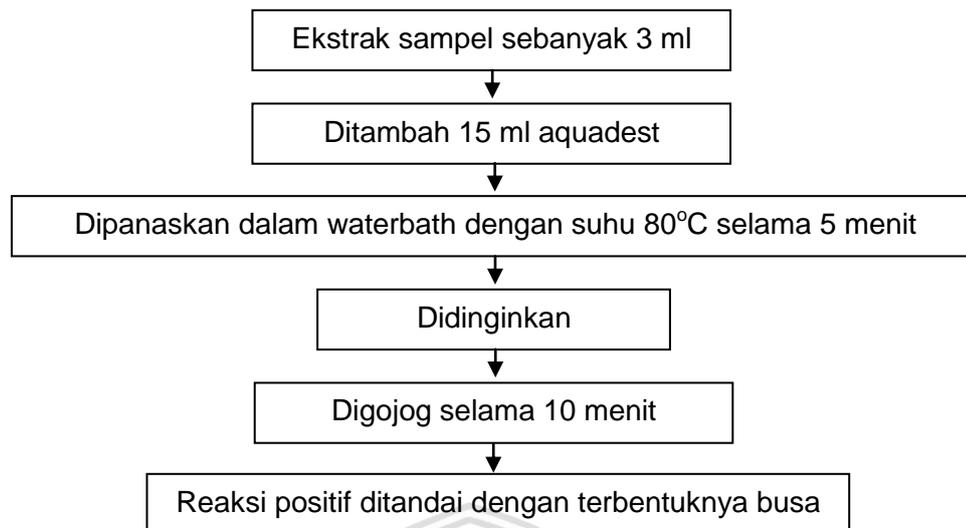
Sebanyak 50 mg sampel uji ditambahkan asam asetat anhidrat sampai sampel terendam semuanya, dibiarkan selama kira-kira 15 menit. Kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan di tambahkan 3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga, atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru dan jika warna berubah menjadi hijau kebiruan maka positif sterol. Prosedur pengujian steroid dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Prosedur Pengujian Steroid (Harborne, 1987)

e. Uji Saponin (Rasyid, 2012)

Pengujian saponin dilakukan menggunakan metode Forth yaitu melihat ada atau tidaknya busa yang terbentuk dengan mereaksikan sampel dan air. Ekstrak kasar sampel diambil sebanyak 1 g dan ditambahkan 10 ml aquades. Larutan dipanaskan selama 5 menit. Kemudian larutan dimasukkan tabung reaksi dalam keadaan panas lalu dikocok secara vertikal selama 10 detik. Hasil positif apabila terbentuk busa yang stabil dan tidak hilang saat ditambahkan satu tetes HCN 2 N. Prosedur pengujian saponin dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Prosedur Pengujian Steroid (Harborne, 1987)

3.4.10 Uji Kadar Air (Sudarmadji, 2003)

Penentuan kadar air ditentukan dengan metode pemanasan menggunakan oven. Sampel ditimbang sebanyak ± 3 g di dalam cawan porselin, dimasukan dalam oven dengan temperetur pemanasan 105°C selama 3 jam kemudian didinginkan, lalu sampel ditimbang. Kemudian dipanaskan kembali dengan oven dan didinginkan sampai mencapai berat konstan. Rumus perhitungan kadar air sebagai berikut :

$$\text{Kadar air (\% bb)} = \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$$

$$\text{(\% bk)} = \frac{(a-b)}{b} \times 100\%$$

Keterangan : a = berat bahan awal ; b = berat bahan akhir; bb = berat basah;

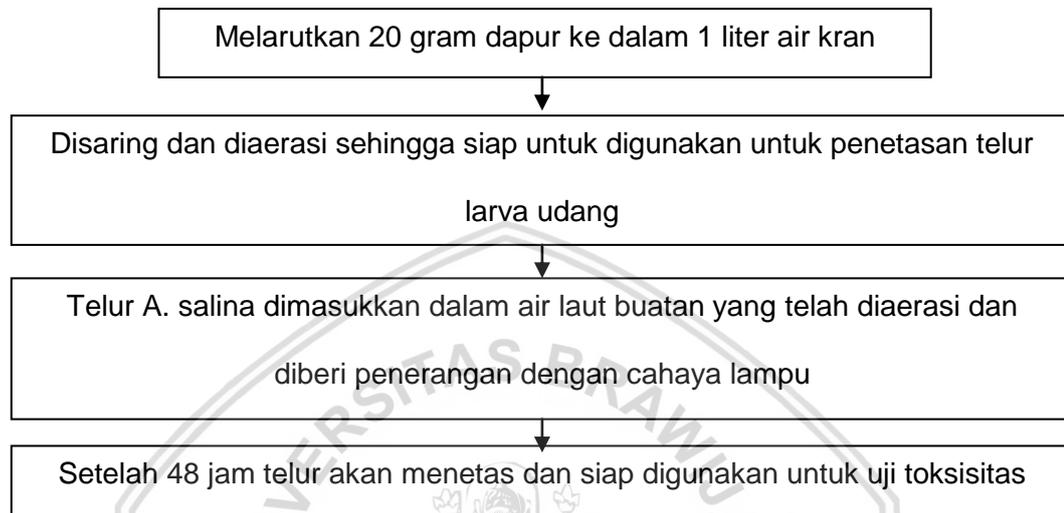
bk = berat kering

3.4.11 Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

a. **Penyiapan Larva *Artemia salina* Leach (Lany et al., 2006)**

Telur udang *A. salina* ditetaskan dalam wadah kaca berisi air laut buatan. Air laut buatan dibuat dengan melarutkan 20 gram garam dapur ke dalam 1 liter air kran, kemudian disaring dan diaerasi sehingga siap untuk digunakan untuk

penetasan telur *A. salina*. Telur *A. salina* dimasukkan dalam air laut buatan yang telah diaerasi dan diberi penerangan dengan cahaya lampu. Setelah 48 jam telur akan menetas dan siap digunakan untuk uji toksisitas. Prosedur penyiapan larva *artemia* dapat dilihat pada Gambar 11.

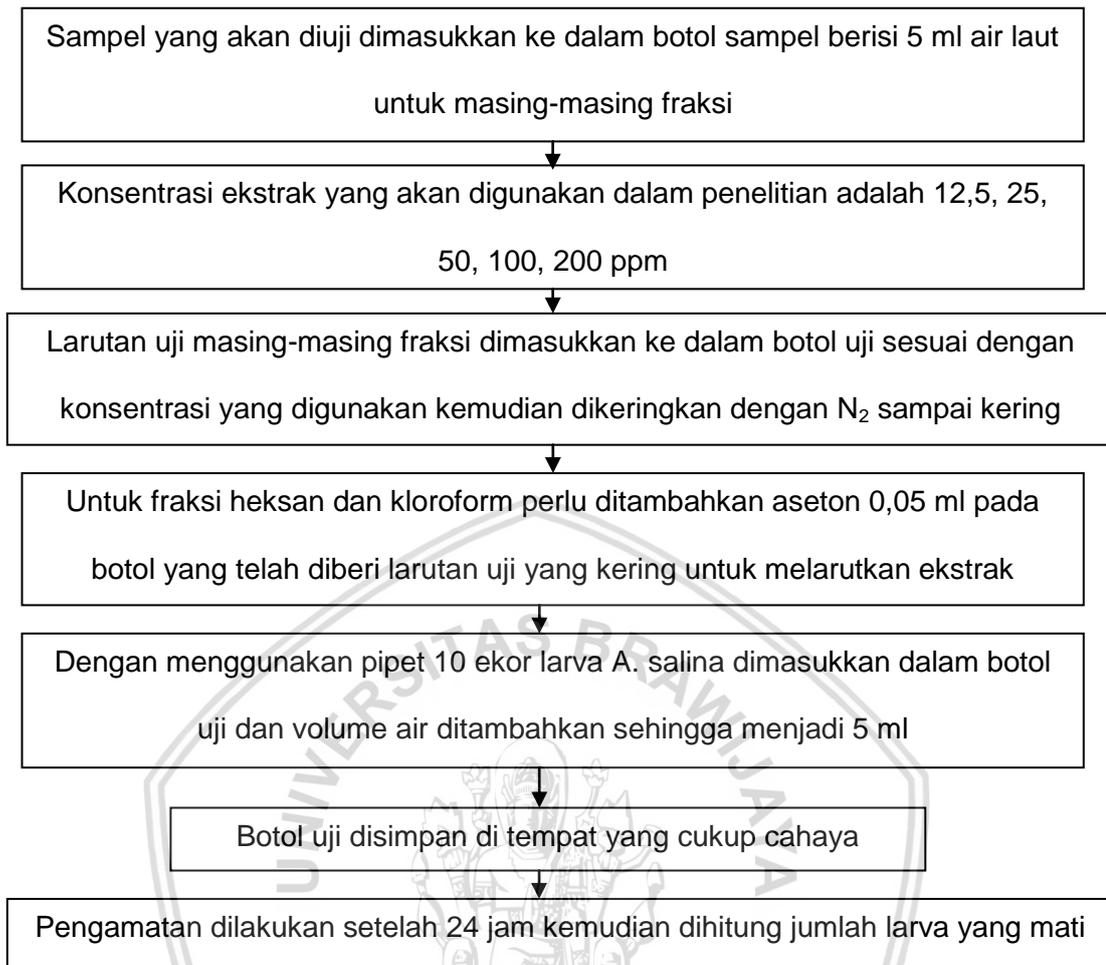


Gambar 11. Prosedur Penyiapan Larva Artemia (Putra, 2016)

b. Penentuan Konsentrasi Larutan Ekstrak dan Uji Toksisitas *Artemia salina* Leach. (Muaja *et al.*, 2013)

Penentuan konsentrasi larutan uji yang digunakan dimulai dari pembuatan larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm yang di buat dari melarutkan 40 mg ekstrak sampel dalam 20 ml air laut. Larutan induk tersebut kemudian diencerkan kembali hingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 1000, 500, 100, 50, 25, dan 12,5 ppm serta 0 ppm tanpa tambahan ekstrak sampel digunakan sebagai kontrol.

Uji toksisitas dilakukan dengan mengisikan 5 ml larutan ekstrak dari masing-masing sampel (A, B, C) untuk tiap konsentrasinya ke dalam botol vial, sehingga ada 19 botol vial untuk 1 kali ulangan. Lalu 10 ekor *Artemia salina* Leach. dimasukkan kedalam masing-masing botol vial tersebut. Pengamatan jumlah larva *Artemia salina* Leach. yang mati dilakukan selama 24 jam ditiap 6 jam sekali. Prosedur pengujian toksisitas dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Prosedur Pengujian Toksisitas (Putra, 2016)

3.4.12 Pengujian Aktifitas Antioksidan Metode DPPH

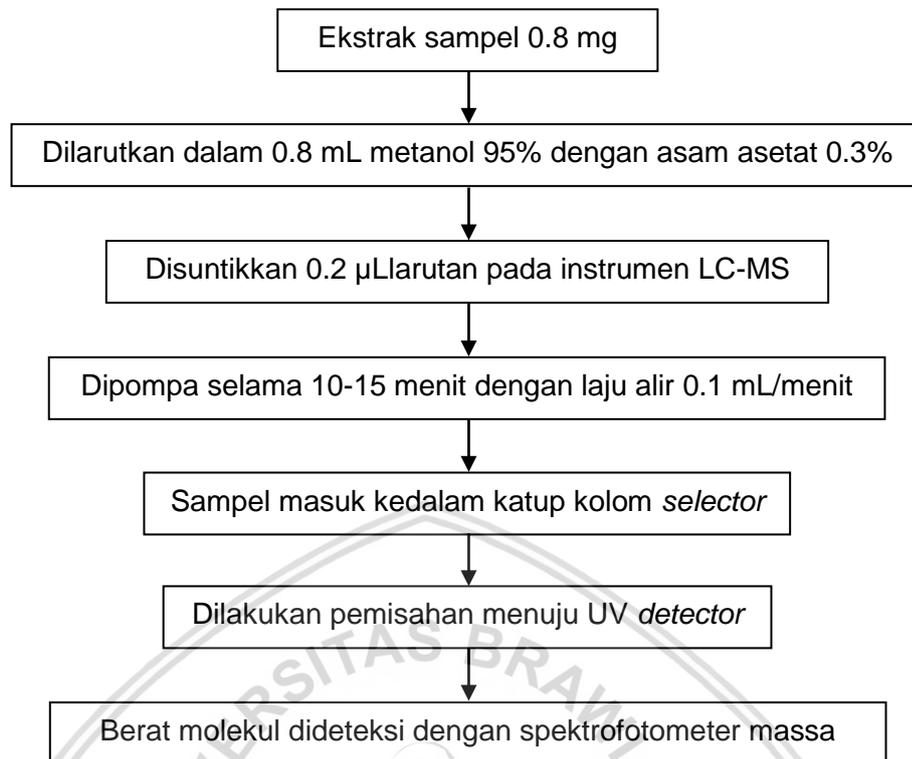
Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas DPPH sebagai media pengujian. Pengujian aktivitas penangkal radikal bebas dilakukan dengan mereaksikan larutan uji dengan larutan DPPH dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Penurunan intensitas warna larutan DPPH sebagai akibat terjadi pelepasan atom hidrogen dari senyawa fenolik kepada senyawa DPPH yang kekurangan elektron (Yudhie *et al.*, 2016).

3.4.13 Pengujian Total Fenol

Fraksi ditentukan kandungan total fenolik dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Sebanyak 0,1 mL masing-masing fraksi 1000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex selama 2 menit, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya di baca pada λ 750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai ekivalen asam galat mg/kg ekstrak (Injilia *et al.*, 2013)

3.4.14 Analisis *Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometry*

Analisis *liquid chromatograph mass spectrofotometry* (LC-MS) adalah metode yang memisahkan senyawa organik untuk diidentifikasi. Kelebihan dari metode ini adalah lebih sensitif dan selektif jika dibandingkan dengan menggunakan metode deteksi sinar UV biasa. Mula-mula ditimbang 0,8 mg ekstrak daun *Xylocarpus granatum*. Kemudian dilarutkan dalam 0,8 ml metanol 95% dan 0,8 ml asam asetat 0,3%. Sebanyak 0,2 μ l larutan diatas, disuntikkan dalam instrumen LC-MS dengan kecepatan 0,1 ml/menit. Larutan kemudian dipompa selama 10-15 menit dan masuk kedalam kolom selektor. Selanjutnya dilakukan pemisahan oleh UV detektor. Berat molekul yang dideteksi dihitung dengan spektrofotometer. Skema analisis senyawa bioaktif menggunakan LC-MS dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Skema Analisis Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS

(Putra, 2016)

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

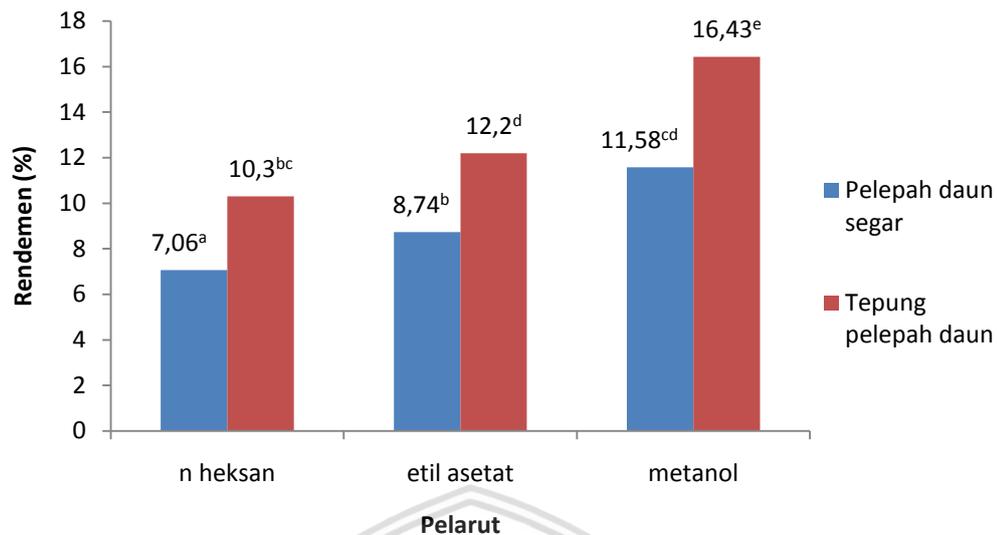
4.1 Ekstraksi Pelepah Daun *Nypa fruticans*

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat sebanyak 150 g pelepah daun *Nypa fruticans* dengan 2 perlakuan (pelepah daun segar dan tepung pelepah daun) menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol dengan perbandingan 1:4 selama 1 x 24 jam. Setelah itu diuapkan pelarut pada tiap ekstrak menggunakan rotary evaporator dan didapat hasil/rendemen.

Ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat masing-masing dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya bertujuan untuk memisahkan senyawa terlarut dalam sampel. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya juga bertujuan untuk memisahkan campuran senyawa dengan berbagai sifat kimia yang berbeda. Untuk parameter yang diamati adalah rendemen, kadar air, dan fitokimia.

4.2 Rendemen

Dari hasil perhitungan rata-rata rendemen ekstrak pelepah daun nipah segar diperoleh nilai berkisar 7,06 % sampai dengan 11,58%. Untuk hasil rendemen ekstrak tepung pelepah daun nipah diperoleh nilai berkisar 10,43% sampai dengan 16,43%. Selanjutnya dihitung menggunakan ANOVA. Data rendemen disajikan pada Gambar 14.

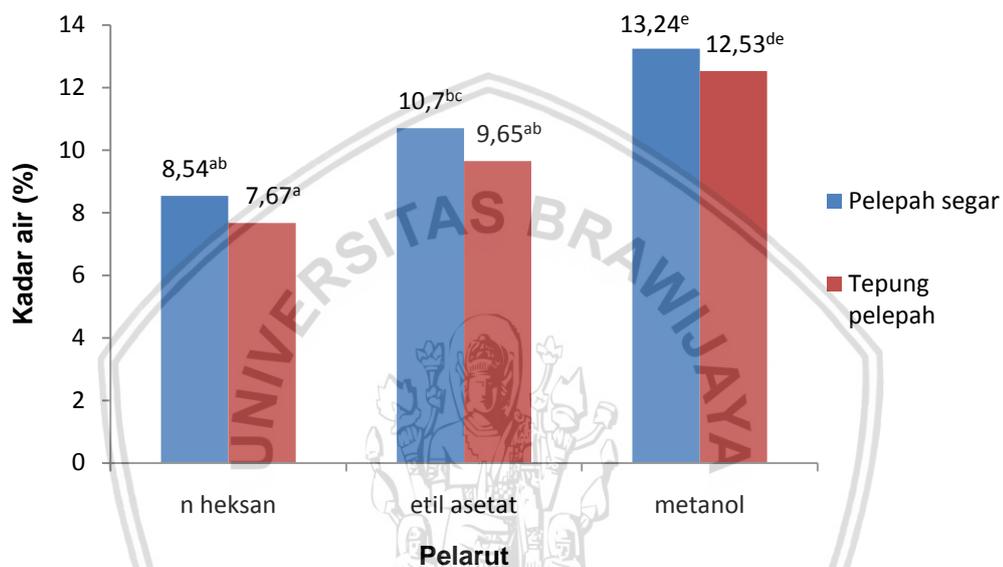


Gambar 14. Grafik Rata-Rata Rendemen Ekstrak Sampel

Hasil perhitungan rendemen menunjukkan bahwa didapatkan rendemen tertinggi pada sampel pelepah daun segar yaitu sampel ekstrak dengan pelarut metanol yaitu 11,58% dan terendah pada sampel ekstrak pelarut n heksan yaitu 7,06%. Sedangkan untuk sampel tepung pelepah rendemen tertinggi yaitu pada sampel ekstrak pelarut metanol sebesar 16,43% dan terendah pada sampel ekstrak pelarut n heksan 10,3%. Hasil ini menunjukkan bahwa rendemen hasil ekstraksi sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan serta ukuran bahan ekstrak. Dalam perhitungan rendemen juga didapatkan ekstrak yang dimaserasi menggunakan metanol mendapatkan nilai rendemen paling tinggi. Perhitungan rendemen tertinggi juga didapatkan oleh ekstrak dari tepung pelepah. Hal ini dikarenakan metanol dapat menarik banyak senyawa yang ada pada tepung pelepah yang telah dihilangkan kadar airnya. Hal ini sesuai dengan penelitian Astarina *et al.*, (2013), bahwa metanol merupakan pelarut universal yang memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) sehingga dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder baik bersifat polar dan nonpolar.

4.2 Kadar Air

Dari hasil perhitungan rata-rata kadar air ekstrak pelepah daun nipah segar diperoleh nilai berkisar 8,03 % sampai dengan 13,28%. Untuk hasil kadar air ekstrak tepung pelepah daun nipah diperoleh nilai berkisar 7,43% sampai dengan 11,43%. Selanjutnya dihitung menggunakan ANOVA (lampiran 3). Data kadar air disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik Rata-Rata Kadar Air

Hasil perhitungan kadar air menunjukkan bahwa didapatkan kadar air tertinggi untuk sampel ekstrak pelepah nipah segar adalah dengan pelarut metanol yaitu sebesar 13,24% dan terendah yaitu pada ekstrak menggunakan n heksan yaitu sebesar 8,54%. Sedangkan untuk sampel tepung pelepah nipah didapatkan kadar air tertinggi yaitu pada ekstrak metanol sebesar 12,53% dan terendah yaitu pada ekstrak n heksan yaitu sebesar 7,67%. Tepung pelepah nipah memiliki lebih sedikit air yang terkandung pada ekstraknya dikarenakan pada proses penepungan terdapat proses pengeringan sehingga air yang terkandung dalam sampel telah berkurang. Hasil yang didapat juga dipengaruhi oleh jenis pelarut, n heksan yang bersifat non polar memiliki nilai kadar

air yang rendah sedangkan metanol menghasilkan nilai kadar air yang tinggi karena metanol dapat melarutkan air yang juga bersifat polar. Hal ini sesuai dengan penelitian Hariyadi (2011), penurunan kadar air disebabkan oleh peningkatan suhu yang digunakan saat proses pengeringan, semakin tinggi suhu pengeringan akan semakin cepat pula penurunan kadar air dalam bahan.

4.3 Fitokimia Pelepah Daun *Nypa fruticans*

Uji fitokimia dilakukan dengan menguji ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans* dengan pelarut berbeda (n-heksan, etil asetat, dan metanol) menunjukkan kandungan fitokimia yang beragam. Untuk hasil uji fitokimia pelepah daun mangrove nipah dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Pelepah Daun *Nypa fruticans*

Sampel	Pelarut	Uji Fitokimia				
		Alkaloid	Flavonoid	Triterpen / Steroid	Saponin	Tanin
Pelepah segar	n Heksan	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Etil Asetat	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Metanol	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
Tepung pelepah	n Heksan	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Etil Asetat	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
	Metanol	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)

Keterangan : (+) Terdeteksi

(-) Tidak terdeteksi

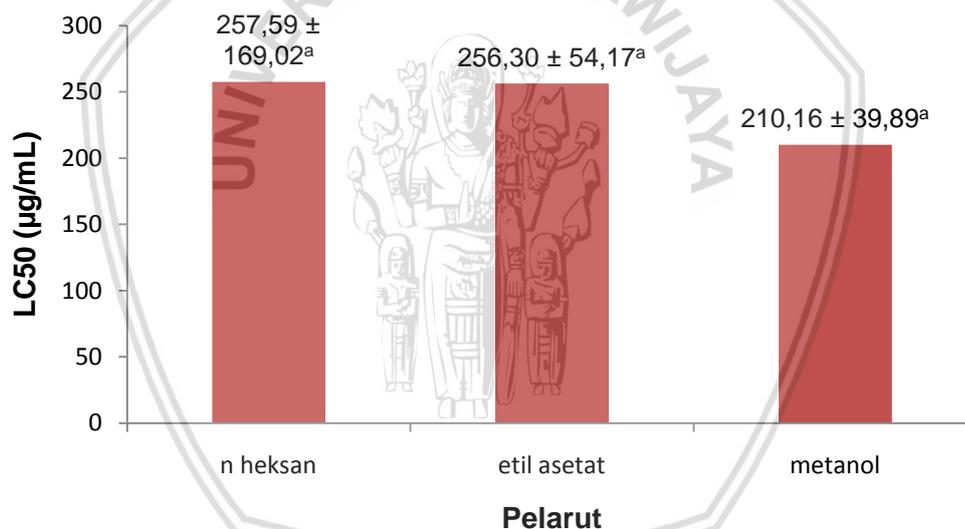
Sumber : Laboratorium Perikanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya (2017)

Dari hasil uji fitokimia pelepah daun mangrove nipah dari pelarut yang berbeda diketahui bahwa perlakuan terbaik adalah pelepah daun nipah yang telah dijadikan tepung dan diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada tepung pelepah dapat dengan baik ditarik oleh metanol karena berkurangnya kadar air yang menyebabkan ekstraksi tidak maksimal. Kandungan senyawa bioaktifnya adalah triterpen, flavonoid, tanin, dan

alkaloid. Hal tersebut dapat menjelaskan bahwa senyawa yang diduga sebagai antioksidan adalah alkaloid. Hal ini diperkuat oleh penelitian Osabor *et al.*, (2008) menyatakan bahwa nipah mengandung polifenol, tannin dan alkaloid. Rebusan *Nypa fruticans* Wurmb mengandung beberapa bahan aktif yaitu polifenol (antioksidan), tannin, alkaloid, flavonoid (antioksidan), fitosterol (Syahri, 2015).

4.4 Uji Toksisitas Ekstrak Tepung Pelepah Daun *Nypa Fruticans*

Dari hasil perhitungan rata-rata LC_{50} ekstrak pelepah daun nipah segar diperoleh nilai berkisar 210,16 $\mu\text{g/mL}$ sampai dengan 257,59 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dihitung menggunakan ANOVA (lampiran 13). Data toksisitas disajikan pada Gambar 16.



Gambar 16. Grafik Rata-Rata Toksisitas Sampel

Nilai LC_{50} dari tiap ekstrak diperoleh dari hasil perhitungan log konsentrasi terhadap nilai probit. Nilai LC_{50} menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian pada jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Jadi semakin rendah nilai LC_{50} sebuah sampel maka sifat toksik sampel tersebut semakin kuat (Nisfi, 2010). Sifat toksik dapat dibagi

menjadi 3 tingkatan berdasarkan nilai toksisitas yaitu 0-250 ppm sangat toksik, 500-750 toksik sedang, dan 750-1000 tidak toksik.

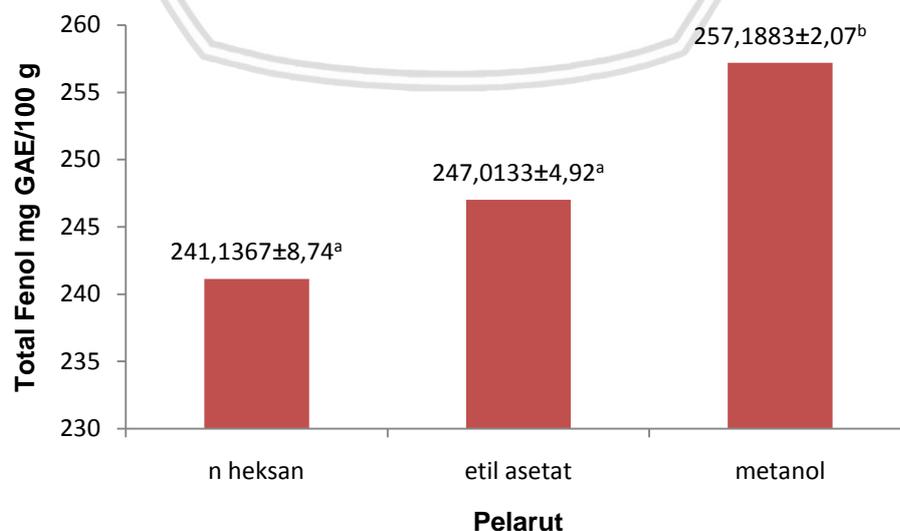
Berdasarkan Gambar 16, diketahui bahwa ekstrak metanol pelepah daun *Nypa fruticans* memiliki nilai rata-ran LC_{50} di bawah 500 ppm yaitu sebesar $257,59 \pm 169,02$ ppm. Hasil ini menunjukkan ekstrak metanol pelepah daun *Nypa fruticans* bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* leach. Untuk hasil ekstraksi etil asetat dan n heksan menunjukkan toksisitas yang relatif tinggi dari ekstrak metanol yaitu masing-masing memiliki nilai rata-ran LC_{50} sebesar $256,30 \pm 54,17$ ppm dan $210,16 \pm 39,89$ ppm. Menurut Mojo *et al.*, (2016), sifat toksik dapat ditentukan dari beberapa tingkatan yaitu nilai LC_{50} kurang dari $30 \mu\text{g/mL}$ bersifat sitotoksik, untuk $30-200 \mu\text{g/mL}$ memiliki potensi sebagai antibakteri, sedangkan untuk $200-1000 \mu\text{g/mL}$ berpotensi sebagai obat tumbuhan.

Nilai LC_{50} yang didapat kemudian dilakukan analisis menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan menggunakan rancangan acak lengkap pada taraf kepercayaan 95%. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata antara masing-masing pelarut sehingga tidak dilanjutkan untuk uji lanjut. Namun untuk pengujian toksisitas, semakin rendah nilai LC_{50} maka semakin kuat sifat toksik dari suatu ekstrak. Perlakuan terbaik didapatkan oleh pelarut metanol dengan nilai LC_{50} sebesar $210,16 \pm 39,89$ ppm. Tingkatan sifat toksik dapat dibagi menjadi beberapa tingkatan yaitu 0-250 ppm sangat toksik, 250-500 ppm toksik, 500-750 ppm bersifat toksik sedang dan 750-1000 bersifat tidak toksik (Aras, 2013).

Ekstrak metanol mampu menarik senyawa-senyawa dalam pelepah daun *Nypa fruticans* yang sebagian besar bersifat polar. Senyawa metabolit sekunder tersebut diantaranya alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, steroid dan saponin yang diduga memiliki sifat toksik. Mekanisme kematian larva *Artemia salina* Leach berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tanin dan saponin yang menghambat daya makan larva (antifedant). Senyawa tersebut bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan (Vitalia *et al.*, 2016).

4.5 Uji Total Fenol Ekstrak Pelepah Daun *Nypa fruticans*

Dari hasil perhitungan rata-rata total fenol ekstrak pelepah daun nipah segar diperoleh nilai berkisar 241,1367 mg GAE/100 g sampai dengan 257,1883 mg GAE/100 g. Selanjutnya dihitung menggunakan ANOVA (lampiran 9). Data total fenol disajikan pada Gambar 17.



Gambar 17. Rata-rata Total Fenol Ekstrak Tepung Pelepah *Nypa fruticans*

Berdasarkan hasil rata-rata di atas kandungan fenolik ekstrak metanol tepung pelepah daun *Nypa fruticans* memiliki nilai tertinggi sebesar $257,188 \pm 2,07$ mg GAE/100 g. Sedangkan untuk kandungan fenol terendah didapatkan dari ekstrak n heksan tepung pelepah daun *Nypa fruticans* yaitu sebesar $241,1367 \pm 8,74$ mg GAE/100 g. Dari hasil di atas menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan dari ketiga ekstrak yang diuji.

Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan hasil yang berbeda nyata antara masing-masing pelarut. Nilai total fenol terendah diperoleh pelarut n heksan sebesar $241,1367 \pm 8,74$ mg GAE/100 g. Sedangkan nilai IC_{50} tertinggi diperoleh pelarut metanol sebesar $257,1883 \pm 2,07$ mg GAE/100 g.

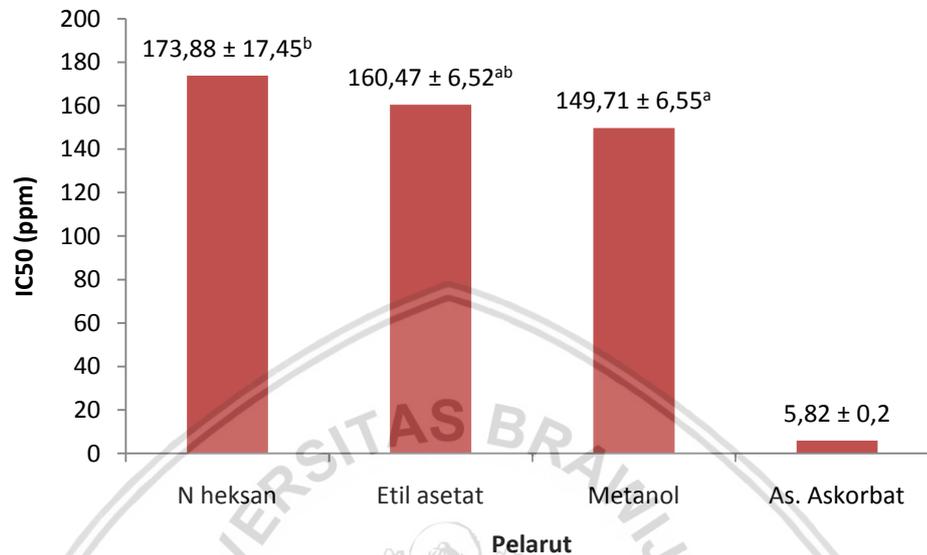
Diketahui jika tinggi atau rendahnya kadar senyawa fenolik dalam sebuah sampel sangat berhubungan dengan sifat senyawa fenol yang bersifat polar, sehingga senyawa fenol lebih mudah larut pada pelarut semi polar dan polar. Oleh karena n heksan mendapat nilai rata-rata total fenol terendah karena bersifat non polar. Senyawa fenolik salah satunya golongan flavonoid, tokoferol, kumarin dapat berfungsi sebagai antioksidan, yang berfungsi untuk menghambat oksidasi lemak (Septiana dan Asnani, 2012).

Tingginya nilai total fenol pada ekstrak metanol menandakan bahwa ekstrak tepung pelepah daun *Nypa fruticans* mempunyai banyak senyawa yang dapat larut dalam pelarut bersifat polar. Senyawa fenol cenderung untuk dapat larut pada pelarut yang bersifat polar. Pelarut yang paling umum digunakan adalah metanol dan air (Kasminah, 2016)

4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Pelepah Daun *Nypa fruticans*

Dari hasil perhitungan rata-rata total fenol ekstrak pelepah daun nipah segar diperoleh nilai berkisar 149,71 ppm sampai dengan 173,88 ppm.

Selanjutnya dihitung menggunakan anova (lampiran). Aktivitas antioksidan disajikan pada Gambar 18.



Gambar 18. Rata-rata Nilai IC₅₀ Ekstrak Tepung Pelepeh Nypa fruticans

Berdasarkan hasil di atas nilai IC₅₀ pada setiap perlakuan pelarut yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Nilai IC₅₀ tertinggi didapatkan pada ekstrak dengan pelarut n-heksan sebesar 173,88 ppm, sedangkan nilai IC₅₀ terendah didapatkan pada ekstrak dengan pelarut metanol sebesar 149,71 ppm. Semakin rendah nilai IC₅₀ menandakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak yang dihasilkan semakin kuat. Ekstrak dengan pelarut metanol memiliki nilai terendah yang artinya bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan paling baik dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan etil asetat. Selaras dengan penelitian Pramesti (2013) senyawa dapat dikatakan sebagai memiliki aktivitas antioksidan kuat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 51-100 ppm, antioksidan sedang 101-150 ppm, dan antioksidan kuat 151-200 ppm. Hal ini dapat terjadi dikarenakan pelarut metanol dapat menarik lebih banyak senyawa metabolit sekunder pada sampel bahan. Menurut Nurjanah *et al.*,

(2015), senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah golongan senyawa fenolik seperti flavonoid. Sedangkan untuk ekstrak dengan pelarut n-heksan memiliki nilai IC_{50} tertinggi menunjukkan aktivitas antioksidan yang rendah. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian Nurjanah *et al.*, (2015) bahwa pelarut n-heksan dapat menarik komponen non polar, contohnya seperti minyak esensial, lemak, dan lilin yang tidak berpotensi memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan hasil yang berbeda nyata antara masing-masing pelarut. Nilai IC_{50} terendah diperoleh pelarut metanol sebesar $149,71 \pm 6,55$ ppm. Sedangkan nilai IC_{50} tertinggi diperoleh pelarut n-heksan sebesar $173,88 \pm 17,45$ ppm.

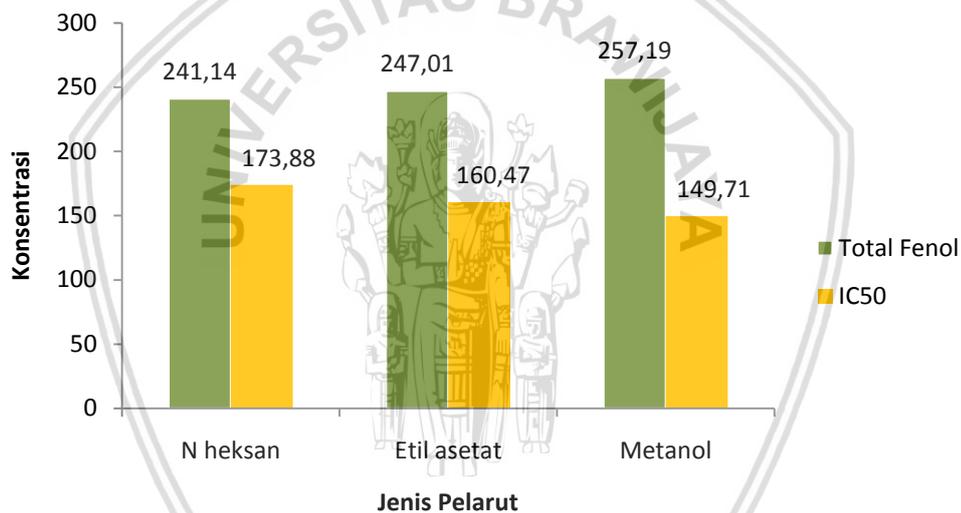
Pada pengujian aktivitas antioksidan juga dilakukan pengujian pada asam askorbat atau vitamin c yang merupakan jenis antioksidan yang dapat kita jumpai dan konsumsi sehari-hari. Pengujian aktivitas antioksidan pada asam askorbat bertujuan sebagai pembandingan dari nilai aktivitas antioksidan sampel pelepah daun *Nypa fruticans*. Konsentrasi yang digunakan pada uji aktivitas antioksidan asam askorbat yaitu sebesar 2, 4, 8, 16, dan 32 ppm. Dari penentuan konsentrasi tersebut didapatkan hasil nilai IC_{50} sebesar 5,82 ppm. Asam askorbat atau vitamin c berfungsi sebagai kontrol sebagai kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan (Agustini, 2012).

Jika dibandingkan dengan asam askorbat yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,82 ppm dan ekstrak metanol yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 149,71 ppm dapat diartikan bahwa ekstrak metanol digolongkan sebagai antioksidan sedang. Hal ini dikarenakan asam askorbat memiliki nilai IC_{50} yang sangat rendah yang digolongkan sebagai antioksidan kuat karena di bawah 50 ppm. Sedangkan untuk ekstrak etil asetat dan n-heksan memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC_{50} yang masih dalam kisaran 100-150 ppm. Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari

50 ppm, kuat dengan nilai IC_{50} 500-100 ppm, sedang dengan nilai IC_{50} 100-150 ppm, dan lemah dengan nilai IC_{50} 151-200 ppm (Zuhra *et al.*, 2008).

4.7 Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan Ekstral Pelepah Daun *Nypa fruticans*

Senyawa fenol, alkaloid, dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat bersifat antioksidan. Makin tinggi nilai total fenol ekstrak tepung pelepah daun *Nypa fruticans* makin tinggi pula aktivitas antioksidan pada ekstrak tersebut. Grafik hubungan total fenol dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Hubungan Nilai Total fenol dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelepah Daun *Nypa fruticans*

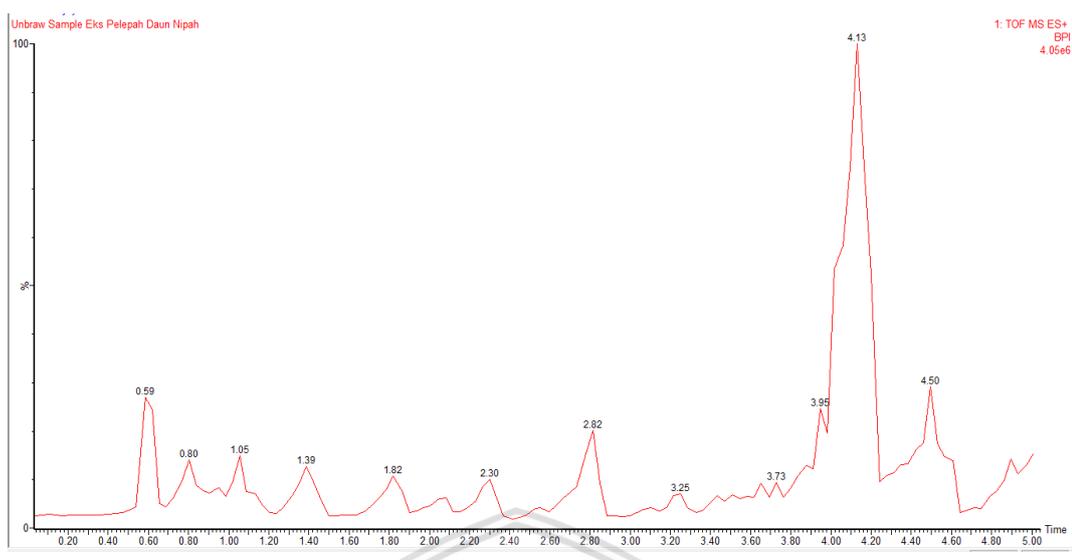
Berdasarkan Gambar 19 diketahui hubungan total fenol (mgGAE/100g) dengan aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans* berbanding lurus. Semakin tinggi nilai total fenol maka aktivitas antioksidan semakin kuat yang ditunjukkan dengan semakin rendah nilai IC_{50} . Pada ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans* pada penelitian ini, nilai tertinggi didapatkan oleh ekstrak metanol yang juga disertai dengan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang kuat. Menurut Ukieyanna (2012), total fenolik tergantung pada struktur senyawa

kimianya, senyawa fenolik yang mempunyai gugus fungsi hidroksil dalam jumlah banyak akan menghasilkan kandungan fenolik yang tinggi. Pelarut polar dapat menarik senyawa fenolik. Hal ini dikarenakan senyawa fenolik yang bersifat polar dapat larut dalam pelarut yang bersifat polar berpotensi memiliki nilai aktivitas antioksidan yang tinggi. Hasil di atas sesuai dengan penelitian Jaya *et al.*, (2012), semakin tinggi nilai total fenol pada suatu bahan, maka penangkapan radikal bebas akan meningkat pula yang artinya bahan tersebut memiliki potensi memiliki sifat antioksidan.

4.8 Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan Uji *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LCMS)

Ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans* yang terbaik adalah ekstrak metanol yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan ekstrak dengan pelarut lain, dilakukan pengujian selanjutnya yaitu dengan menggunakan uji *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LC-MS). Uji LC-MS berfungsi untuk mencari dan menduga senyawa yang ada dalam ekstrak tersebut. Identifikasi senyawanya sendiri melalui berat molekul pada senyawa tersebut sehingga didapatkan senyawa yang spesifik.

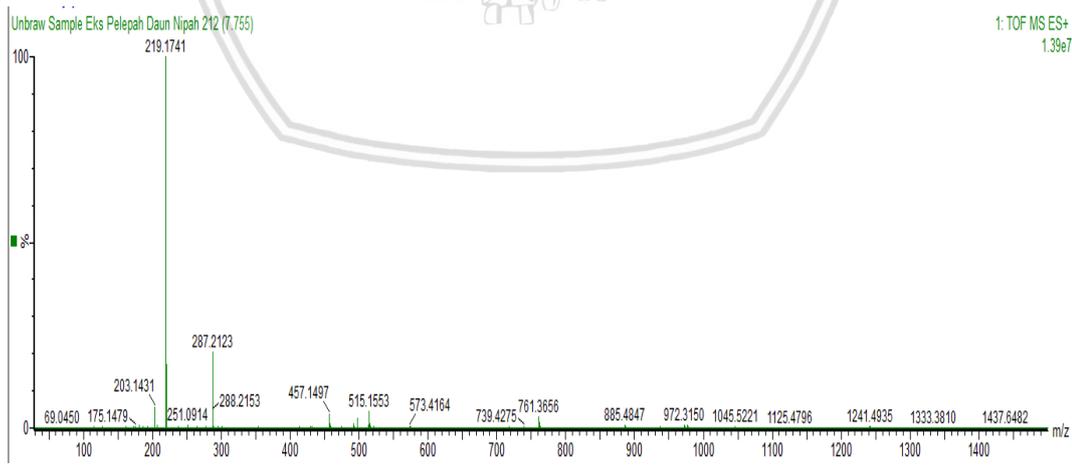
Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LC-MS) adalah suatu teknik analisis yang memiliki kemampuan untuk memisahkan yang sangat baik dikarenakan memiliki sensitivitas dan tingkat spesifitas yang sangat tinggi. Menurut Fathonah (2016) uji LC-MS dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa dugaan dalam suatu sampel yang didasarkan pada berat molekul yang terbaca pada spektrometer massa. Hasil identifikasi senyawa ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans* dengan pelarut metanol disajikan dalam kromatogram dengan puncak waktu retensi tertentu. Kromatogram ekstrak pelepah daun *Nypa fruticans* dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Kromatogram Ekstrak Metanol Pelepah Daun Nypa fruticans

Berdasarkan hasil kromatogram pada Gambar 15 dapat diketahui senyawa yang berhasil diidentifikasi pada ekstrak metanol pelepah daun *Nypa fruticans* pada menit 7,75, 8,27, dan 9,00. Senyawa yang teridentifikasi pada waktu tersebut paling banyak terdapat pada puncak beberapa waktu retensi. Puncak yang dihasilkan pada masing-masing waktu retensi ekstrak metanol pelepah daun *Nypa fruticans* dapat dilihat pada Gambar 21, 22, dan 23.

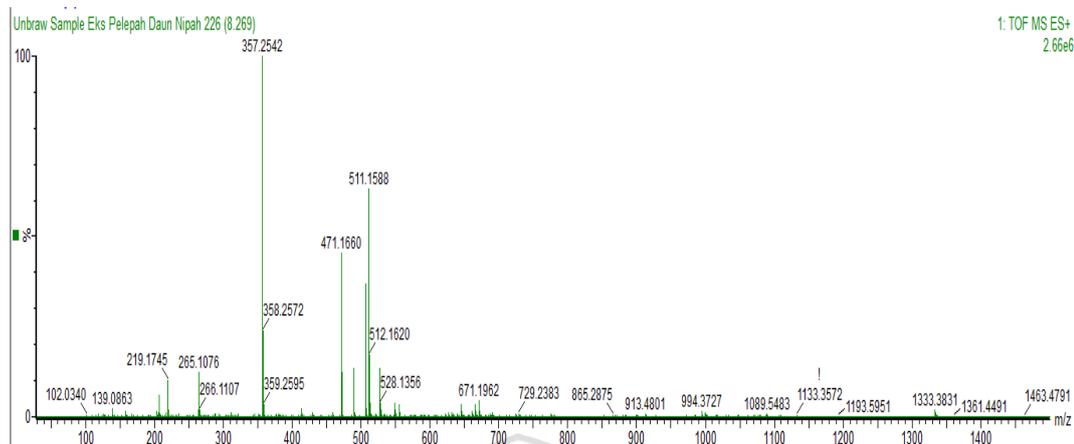
Rt 7.75



Gambar 21. Spektrum Massa Waktu Retensi 7.75

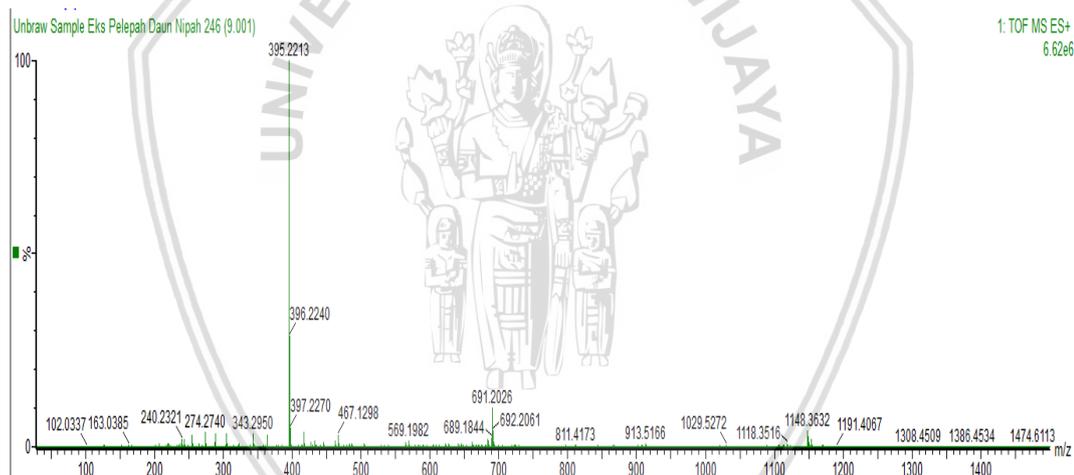


Rt 8,27



Gambar 22. Spektrum Massa Waktu Retensi 8.27

Rt 9.00



Gambar 23. Spektrum Massa Waktu Retensi 9.00

Senyawa yang terdeteksi pada waktu retensi 7.75 diduga sebagai senyawa nootkatone dengan berat molekul 219,1749 g/mol dan memiliki rumus molekul $C_{15}H_{23}O$. Untuk senyawa yang terdeteksi pada waktu retensi 8.27 diduga sebagai senyawa dopexamine dengan berat molekul 357.2542 dengan rumus molekul $C_{22}H_{33}N_2O_2$. Untuk senyawa yang terdeteksi pada waktu retensi 9.00

diduga sebagai senyawa bixin dengan berat molekul 395.2222 dengan rumus molekul $C_{25}H_{31}O_4$.

Nootkatone dipertimbangkan memiliki sifat sebagai penghambat AChE (acetyl cholinesterase). Senyawa yang menghambat AChE pada manusia dapat digunakan sebagai obat kemoterapi yang aman bagi penderita penyakit Alzheimer (Miyazawa *et al.*, 2001). Metabolit nootkatone menunjukkan aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker (Anna *et al.*, 2011).

Efek antioksidan dopexamine dihubungkan secara khusus melalui reseptor adrenergik (Jacinto *et al.*, 1997). Menurut penelitian Kostopanagiotou *et al.*, (2005) agonis reseptor adrenergik selektif (dopexamine) memiliki efek antioksidan yang lebih baik dibandingkan agonis reseptor adrenergik selektif (dopamin)

Bixin adalah karotenoid setengah ester dan lebih tepatnya diapo-karotenoid . Secara historis bixin adalah senyawa karotenoid pertama di mana isomerisme geometris ditemukan (Giridhar *et al.*, 2014). Peran terpenting karotenoid dalam proses fisiologi adalah sebagai zat antioksidan dan penghantar elektron dalam fotosintesis (Mithra, 2011).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian Pengujian Toksisitas dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelepah Daun *Nypa fruticans* dengan Pelarut Ekstraksi yang Berbeda adalah sebagai berikut:

- Ekstrak metanol pelepah daun *Nypa fruticans* memiliki tingkat toksisitas terbaik dengan nilai LC_{50} sebesar 210,16 ppm yang termasuk ke dalam tingkat senyawa toksik.
- Ekstrak metanol pelepah daun *Nypa fruticans* memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} sebesar 149,71 ppm yang termasuk ke dalam tingkat aktivitas antioksidan sedang.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan pelepah daun *Nypa fruticans* yang memiliki potensi toksisitas dan antioksidan dan sehingga dapat bermanfaat dalam pengobatan penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

- Darminto, Alimuddin, A., dan Iwan, D. 2009. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Potensial Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophyla* Dari Kulit Batang Tumbuhan *Avecennia sp.* J. *Chemica* 10(2): 92-99. FMIPA. UNM.
- Ditjenbun. 2006. Daftar Komoditi Binaan Direktorat Jenderal Perkebunan. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 511/KPTS/PD310/9/2006.
- Fathonah, I. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Alga Coklat *Padina australis* dengan Pelaut yang Berbeda terhadap Larva *Artemia salina* Lench. Skripsi. Teknologi Hasil Perikanan FPIK. Universitas Brawijaya. Malang. 94 halaman.
- Fitriyani, A. 2009. Uji *In Vitro* Ekstrak Air Dan Etanol Buah Asam Gelugur, Rimpang Lengkuas, Dan Kencur Sebagai Inhibitor Aktivitas Lipase Pankreas. Skripsi. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 43 halaman
- Gliszczyn, A., a, A. Ł., Janeczko, T., & Switalska, M. (2011).icrobial Transformation of (+)- Nootkatone and the Antiproliferative. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19 (2011) 2464–2469 .
- Ika, R P. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria omata* dari Jepara. Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. 104 halaman
- Imra, Kustiariyah dan Desniar. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Nipah (*Nypa fruticans*) Terhadap *Vibrio sp.* Isolat Kepiting Bakau (*Scylla sp.*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(3): 241-250
- Jaya, I. G. N. I. P., N. P. E. Leliqia., I. N. K. Widjaja. 2012. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Produk Teh Hitam (*Camelia sinensis* (L.) O. K.) dan Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) Serta Profil KLT-Densitometernya. 86-101
- Kostopanagiotou, G., Pandazi, A., Andreadou, I., Doufas, A., & Chondroudaki, I. (2005). Effects of Dopexamine on Lipid Peroxidation During Aortic Surgery in Pigs: Comparison with Dopamine. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 30, 648–653 .
- Korompis, G E c., V R Danes., O J Sumampouw. 2010. Uji Invitro Aktivitas Antibakteri Dari *Lansium domesticum* Corre (Langsat). *Jurnal*: 13-19. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sam Ratulangi. Manado

- Marliana, D., Venty, S., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq, Swartz.*) Dalam Ekstrak Etanol. J. Biofarmasi ISSN: 1693-2242 3(1): 26-31. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Miyazawa, M., Tougo, H., & Ishihara, M. (2001). Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Essential Oil from Citrus Paradisi. *Natural Product Letters Volume 15(3)* , 205-210.
- Munawaroh, S dan P A Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C.*) Dengan Pelarut Etanol Dan N-Heksana. Jurnal Kompetensi Teknik Vol. 2, No 1: 73-78. Program Studi Teknik Kimia. Universitas Negeri Semarang.
- Nisfi, R. R. 2010. Uji Toksisitas Terhadap Artemia Salina Leach Dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus Conoideus* Var. *Conoideus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 80 Halaman
- Pramesti R. 2013. Aktivitas Antoksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa Semulata* Dengan Metode DPPH (*1, 1difenil 2 pikrilhidrazil*). Buletin oseanografi Marina April 2013 vol 2. 7-15. Jurusan Ilmu Kelautan. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. UNDIP.
- Pramono, S. 2006. Penanganan Pasca Panen Dan Pengaruhnya Terhadap Efek Terapi Obat Alami. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia 28: 1-6.
- Syamsudin, A. 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara *In Vivo*. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia No. 7 Tahun 2014. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Yulia O. 2007. Pengujian Kapasitas Antioksidan Ekstrak Polar, Nonpolar, Fraksi Protein Dan Nonprotein Kacang Komak (*Lablab purpureus*). Skripsi. Departemen Ilmu Dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Bogor. Bogor. 74 Halaman.
- Zullaikah, S., Cynthia, C. D., Dewi, F., Lailatul, F., dan Yunila, R. W. 2015. Subcritical Water Extraction of Essential Oils from Indonesia Basil (Kemangi) Leaf: Effects of Temperature and Extraction Time on Yield and Product Composition. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, 1-7.
- Hariyadi P. 2011. Pengeringan (*Drying*)/Dehidrasi (*Dehydration*). Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fateta, IPB. Bogor.
- Septiana, A. T., dan Ari, A. 2012. Kajian Sifat Fisiokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*, 6(1): 22-28.

- Jacinto S, Chintala M, Lokhandwala M, Jandhyala B. Efficacy and mechanisms of dopexamine in the prevention of ischemia-reperfusion induced organ damage: Role of oxygen free radicals. *Clin Exp Hypertens* 1997;19:181–190.
- Kasminah. 2016. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia durvillaei* Dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar dan Polar. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Airlangga.
- Kostopanagiotou, G., Pandazi, A., Andreadou, I., Doufas, A., & Chondroudaki, I. (2005). Effects of Dopexamine on Lipid Peroxidation During Aortic Surgery in Pigs: Comparison with Dopamine. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 30, 648–653 .
- Pramesti, R. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* dengan Metode DPPH (1,1 diphenil 2 pikrilhidrazil). *Buletin Oseanografi Marina*. 2(7): 7-15.
- Nurjanah, N., A.M. Jacob., T. Hidayat dan A. Shylina. 2015. *Bioactive Compounds And Antioxidant Activity Of Lindur Stem Bark (Bruguiera gymnorrhiza)*. *International Journal of Plant Science and Ecology*. 1(5):182-189.
- Zuhra, C F., J B Tarigan dan H Sitohang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. 3 (1) : 7–10.
- Ukheyanna, E. 2012. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- V.N. Osabor, G. E. (2008). Chemical Profile of *Nypa fruticans* from Cross River Estuary, South Eastern Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (1), 146-150.